



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS EN  
BIOPROCESOS

**ESTUDIO CALORIMÉTRICO DE LAS  
TRANSICIONES DE FASE Y DE ESTADO EN  
FUNCIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD EN  
SISTEMAS MODELO Y JUGOS NATURALES**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRO EN CIENCIAS EN BIOPROCESOS

PRESENTA:

**I.A. JOSÉ TERESO MENDOZA CUÉLLAR**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DR. Miguel Ángel Ruiz Cabrera**



**Proyecto realizado en:**

Laboratorio de ingeniería en alimentos-CIEP de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

**Con el financiamiento de:**

El Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado a través de la beca número 597676 brindada para la realización de mis estudios de maestría, así como los fondos recibidos a través del proyecto de Ciencia Básica (CB-179490).

El programa de Maestría en Ciencias en Bioprocesos de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro 000588, en el Nivel Maestría (Consolidado).

# Índice

|  |    |
|--|----|
| INDICE DE TABLAS .....   | i  |
| ÍNDICE DE FIGURAS .....  | ii |
| Resumen.....   | 1  |
| 1. Introducción .....  | 3  |
| 2. Revisión bibliográfica .....  | 6  |
| 2.1. Frutas y su importancia en la industria alimentaria .....             | 6  |
| 2.2. Factores determinantes en el deterioro de frutas .....                | 7  |
| 2.3. Preservación de frutas y derivados .....                              | 8  |
| 2.3.1. Procesos basados en la reducción del contenido de humedad .....     | 8  |
| 2.3.2. Procesos basados en la disminución de temperatura .....             | 9  |
| 2.3.3. Problemas asociados a la deshidratación de jugos .....              | 10 |
| 2.3.4. Problemas asociados a la congelación de frutas y sus derivados..... | 12 |
| 2.4. Transiciones de fase y de estado .....                                | 13 |
| 2.4.1. Caracterización de transiciones de fase y de estado .....           | 15 |
| 2.4.2. Calorimetría diferencial de barrido .....                           | 15 |
| 2.5. Diagramas de estado en sistemas alimenticios .....                    | 20 |
| 2.5.1. Diagramas de estado simplificados.....                              | 21 |
| 2.5.2. Diagramas de estado complementados .....                            | 23 |
| 2.6. Componentes de un diagrama de estado complementado .....              | 25 |
| 2.6.1. Curva Tg .....  | 25 |
| 2.6.2. Curva Tm .....  | 26 |
| 2.6.3. Condición de máxima congelación-concentración .....                 | 26 |
| 2.7. Modelación matemática de las curvas Tg y Tm.....                      | 27 |
| 2.7.1. Ecuación de Gordon-Taylor .....                                     | 27 |
| 2.7.2. Ecuación de Clausius-Clapeyron.....                                 | 28 |
| 3. Justificación del presente estudio .....                                | 30 |
| 4. Hipótesis.....  | 31 |
| 5. Objetivos .....   | 32 |
| 5.1. Objetivo general .....  | 32 |
| 5.2. Objetivos específicos.....  | 32 |
| 6. Materiales y métodos .....  | 33 |
| 6.1. Elaboración de sistemas modelo anhidros.....                          | 33 |
| 6.2. Caracterización de los jugos de frutas y transformación a polvo ..... | 34 |
| 6.2.1. Sólidos totales.....  | 35 |

|   |    |
|---|----|
| 6.2.2. Cuantificación de pectina .....                                      | 35 |
| 6.2.3. Determinación de ácido cítrico .....                                 | 35 |
| 6.2.4. Cuantificación de azúcares.....                                      | 36 |
| 6.2.5. Elaboración de polvo de jugos de fruta.....                          | 36 |
| 6.3. Preparación de muestras a diferentes contenidos de humedad.....        | 37 |
| 6.4. Calorimetría diferencial de barrido.....                               | 38 |
| 6.5. Desarrollo de los diagramas de estado temperatura-concentración.....   | 40 |
| 6.6. Modelación matemática.....   | 41 |
| 6.7. Estudio comparativo entre sistemas modelo y jugos naturales .....      | 42 |
| 7. Resultados y discusión .....   | 43 |
| 7.1. Transiciones térmicas en sistemas modelo con agua congelable.....      | 43 |
| 7.2. Transiciones térmicas en sistemas modelo con agua no congelable.....   | 46 |
| 7.2.1. Diagramas de estado .....  | 53 |
| 7.2.2. Análisis de varianza en sistemas modelo .....                        | 62 |
| 7.3. Jugos naturales de fruta .....   | 68 |
| 7.3.1. Caracterización química de los jugos naturales .....                 | 68 |
| 7.3.2. Transiciones térmicas en jugos de fruta con agua congelable .....    | 72 |
| 7.3.3. Transiciones térmicas en jugos de fruta con agua no congelable ..... | 76 |
| 7.3.4. Diagramas de estado de sistemas reales .....                         | 80 |
| 7.3.5. Análisis comparativo de sistemas modelo y sistemas reales .....      | 83 |
| 8. Conclusiones .....   | 90 |
| Referencias.....  | 92 |

## INDICE DE TABLAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Tabla 6.1. Composición química de los sistemas modelo elaborados con base al diseño centroide simplex.</b>  | <b>34</b> |
| <b>Tabla 7.1. Parámetros de los modelos matemáticos (Ecuación 7 y 1) y de la matriz con máxima crio-concentración de sistemas modelo.</b>  | <b>56</b> |
| <b>Tabla 7.2. Coeficientes de regresión y análisis de varianza (<math>\alpha = 0.05</math>) del modelo de Scheffe (Ecuación 8) para evaluar la variación de las variables respuesta con la composición química de los sistemas modelo.</b>   | <b>64</b> |
| <b>Tabla 7.3. Composición química de jugos naturales expresados en porcentaje másico en base húmeda.</b>   | <b>69</b> |
| <b>Tabla 7.4. Composición química de los jugos naturales expresados en fracción másica sólida en base seca.</b>  | <b>69</b> |
| <b>Tabla 7.5. Parámetros de los modelos matemáticos (Ecuaciones 7 y 1) y de la matriz con máxima crio-concentrada para jugos naturales.</b>  | <b>80</b> |
| <b>Tabla 7.6. Análisis estadístico t-Student para medias de dos muestras pareadas entre variables de respuestas experimentales (Exp) contra las calculadas con las Ecuaciones 9 a 15 (Mod) y considerando las fracciones másicas de fructosa, glucosa y sacarosa reportadas en la Tabla 7.4.</b> | <b>84</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 2.1. Representación gráfica de un termograma obtenido por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) (Martínez-Navarrete et al., 1999).</b>   | <b>16</b> |
| <b>Figura 2.2. Termograma obtenido por DSC con velocidad de calentamiento de 10°C/min (Mohammad., 2007).</b>   | <b>17</b> |
| <b>Figura 2.3. Potencial químico en función de la temperatura (Roos, 2012).</b>  | <b>18</b> |
| <b>Figura 2.4. Diagrama de fase (Roos, 2012).</b>  | <b>19</b> |
| <b>Figura 2.5. Termograma DSC de sistema alimenticio con agua congelable presentando <math>T_m</math> y <math>T_m'</math> (Sablani et al; 2010).</b>   | <b>20</b> |
| <b>Figura 2.6. Isotherma de sorción relacionada con la curva de transición vítrea (<math>T_g</math>) en función del contenido de humedad y actividad de agua para lactosa pura liofilizada (Omar y Roos, 2007).</b>  | <b>22</b> |
| <b>Figura 2.7. Diagrama de estado complementado con diferentes regiones y estados del alimento. <math>T_{bw}</math>, punto de ebullición; <math>T_u</math>, punto eutéctico; <math>T_m'</math>, punto final de congelación; <math>T_g'</math>, transición vítrea en el punto final de congelación; <math>T_{gw}</math>, transición vítrea del agua; <math>T_{ms}</math>, punto de fusión del sólido anhidro; <math>T_{gs}</math>, transición vítrea del sólido anhidro (Rahman, 2006).</b> | <b>24</b> |
| <b>Figura 6.1. Diseño experimental centroide simplex para mezclas de solutos.</b>  | <b>33</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 6.2. Liofilizador IIShin® mostrando la manera en que los frascos son aislados con espuma de poliestireno para obtener jugo de fruta en polvo.</b>   | <b>36</b> |
| <b>Figura 6.3. Desecador con Drierite ® utilizado para llevar al equilibrio los polvos de fruta y sistemas modelo.</b>  | <b>38</b> |
| <b>Figura 6.4. Calorímetro diferencial de barrido DSC i200, TA Instruments, Lukens Drive, New Castle, Delaware 19720, United States.</b>  | <b>39</b> |
| <b>Figura 7.1. Termograma DSC mostrando la forma en que Tf, Tm, Tg', Tm' son caracterizados en el experimento 7, preparado con 79.3 % de humedad (b.h.).</b>  | <b>44</b> |
| <b>Figura 7.2. Flujo de calor en función de la temperatura del experimento 1 de la Tabla 6.1, preparado a diferente contenido de humedad (b.h.). (a) 87.4%, (b) 70.5%, (c) 52.2%, (d) 42.4%.</b>  | <b>47</b> |
| <b>Figura 7.3. Termograma DSC analizado para la determinación de Tg<sub>C</sub> y Tg<sub>H</sub> en el experimento 7 de la Tabla 6.1 en su estado anhidro.</b>  | <b>50</b> |
| <b>Figura 7.4. Termogramas DSC analizado para determinación de Tg<sub>C</sub> y Tg<sub>H</sub>, en el experimento 1 (Tabla 6.1) acondicionado a diferentes contenidos de humedad (b.h.). (a) 4%, (b) 12.5%, (c) 15.8% y (d) 18.5 %.</b> | <b>51</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Figura 7.5. Diagramas de estado de sistemas modelo de los 11 experimentos. (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4, (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10 y (k) 11.</b>  | <b>57</b> |
| <b>Figura 7.6. Variación de los parámetros E y B (Ecuación 7) en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.</b>  | <b>65</b> |
| <b>Figura 7.7. Variación de los parámetros k y Tgs (Ecuación 1) en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.</b>  | <b>66</b> |
| <b>Figura 7.8. Variación de los parámetros Tg', Tm' y xs' en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.</b>  | <b>67</b> |
| <b>Figura 7.9. Cromatogramas HPLC mostrando la separación de los diferentes tipos de azúcares presentes en los jugos de frutas. (a) tuna, (b) naranja, (c) mango, (d) piña, (e) fresa. S: Sacarosa, G: Glucosa, F: Fructosa, GL: Galactosa y U: Desconocido.</b> | <b>70</b> |
| <b>Figura 7.10. Termogramas DSC mostrando como Tf, Tm, Tg' y Tm' son caracterizados en jugo de tuna preparada a 86.6% de humedad (b.h.).</b>   | <b>72</b> |
| <b>Figura 7.11. Termogramas DSC de jugo de mango liofilizado y preparado a diferente contenido de humedad (b.h). (a) 72.2%, (b) 61.1%, (c) 41.7% con annealing t=0 min a t= 30 min, (d) 41.7% con annealing t=30 min a t=90 min.</b>                             | <b>74</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Figura 7.12. Termograma DSC analizado para la determinación de <math>T_{gC}</math> y <math>T_{gH}</math> en el polvo de jugo de tuna en su estado anhidro.</b>   | <b>76</b> |
| <b>Figura 7.13. Termogramas DSC analizado para la determinación de <math>T_{gC}</math> y <math>T_{gH}</math> en jugo liofilizado de mango preparado a diferentes contenidos de humedad (b.h.). (a) 4.6%, (b) 12.5%, (c) 15.1%, (d) 19.2%.</b> | <b>78</b> |
| <b>Figura 7.14. Diagramas de estado de jugos naturales. (a) fresa, (b) tuna, (c) piña, (d) mango, (e) naranja.</b>  | <b>81</b> |
| <b>Figura 7.15. Representación gráfica de los diagramas de estado predicho con las Ecuaciones 9-15 y con los parámetros de jugos de frutas.</b>   | <b>87</b> |

## Resumen

Las frutas o jugos tienen gran demanda en la industria alimentaria por ser excelentes fuentes de macro y micronutrientes como agua, azúcares, vitaminas, minerales, fitoquímicos, etc. y porque son utilizados como materia prima para la producción de subproductos de bajo, intermedio y alto contenido de humedad. Por lo tanto, métodos de conservación basados tanto en la disminución del contenido de humedad o de la temperatura son utilizados en la industria. Sin embargo, durante la implementación de estos procesos se presentan algunos fenómenos físicos con efectos perjudiciales sobre los alimentos. Un diagrama de estado puede ser de gran ayuda para predecir los diferentes estados físicos de un alimento, así como para seleccionar las condiciones adecuadas de procesamiento y almacenamiento de productos con agua congelable y no congelable. Por lo tanto, en este trabajo se determinaron y analizaron las transiciones de fase y estado de sistemas modelo elaborados con solutos característicos de las frutas a diferentes contenidos de humedad y sus correspondientes diagramas de estado fueron desarrollados. Un diseño experimental centroide simplex fue utilizado para establecer la proporción de los solutos de once sistemas modelo anhidros. Estos últimos fueron después preparados a diferentes contenidos de humedad y los puntos de congelación ( $T_m$ ,  $T_m'$ ) y transición vítrea ( $T_g$ ,  $T_g'$ ) mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) fueron determinados. La disminución de la  $T_g$  debido al efecto plastificante del agua y la disminución de  $T_m$  en función del aumento de la concentración de sólidos fueron adecuadamente ajustados ( $R^2 > 0.902$ ) con los modelos de Gordon-Taylor y Chen, respectivamente. Los resultados mostraron que los diagramas de estado fueron afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la composición química de los sistemas modelo. Adicionalmente, los jugos liofilizados de cinco frutas naturales con composición química conocida fueron preparados a diferentes contenidos de humedad y analizados térmicamente con DSC. Diagramas de estados con comportamientos similares a los encontrados con los sistemas modelos fueron desarrollados para los jugos naturales. Con base a un análisis estadístico de t-Student ( $p < 0.05$ ), fue encontrado que los sistemas modelo considerados en este estudio, son adecuados para estudiar el comportamiento térmico de sistemas reales con composición química variable como son los jugos de frutas.

## **Abstract**

Fruits and juice have a high demand in food industry, because they are a good source of macro and micronutrients such as water, sugars, vitamins, minerals, phytochemicals, etc. and also because they are used as raw materials in the production of low, intermediate and high moisture content subproducts. Therefore, conservation methods based both in moisture content and temperature decreasing, are used in industry. However, while this processes are being applied, some physical phenomenon with detrimental effect on food products are present. A state diagram can be a great help to predict the different physical states of a food product, as well as to select the best conditions for processing and storage of products with freezable and non-freezable water. In this context, phase and state transitions were determined of model systems, elaborated with characteristic solutes of fruits at different moisture content and their corresponding state diagrams were developed. An experimental central centroid design was used to establish the proportion of solutes of eleven anhydrous model systems. Samples of the model systems were conditioned to different moisture content and the fusion points ( $T_m$ ,  $T_m'$ ), vitreous transition ( $T_g$ ,  $T_g'$ ) through differential scanning calorimetry (DSC) were determined. The decrease of  $T_g$  due to the plasticizer effect of water and the depression of  $T_m$  in function of the increase of solid concentration were adequately fitted ( $R^2 > 0.800$ ) with Gordon-Taylor and Chen models, respectively. The results showed that the state diagrams were significantly affected ( $p < 0.05$ ) by the chemical composition of model systems. Additionally, freeze-dried juices of five natural fruits with known chemical composition were prepared at different moisture content and terminally analyzed with DSC. State diagrams with similar behavior to those found with model systems were developed for natural juices. Based in a statistical analysis of a t-paired test ( $p < 0.05$ ), it was found that model systems used in this study, are suitable to study thermal behavior of real systems with variable chemical composition, as fruit juice.

## **1. Introducción**

Las frutas o jugos de frutas están considerados como productos agrícolas de gran importancia en la industria alimentaria porque son una excelente fuente de agua, azúcares, así como también de vitaminas, minerales, fitoquímicos y compuestos bioactivos cuyos atributos son principalmente atribuidos a su capacidad antioxidante (Salunkhe y Kadam, 1995; Arthey y Ashurst, 2001; Sinha et al., 2012). El consumo de frutas se encuentra en constante crecimiento en países desarrollados en los cuales son considerados como fuente de micronutrientes y como parte esencial de una dieta saludable. Por ejemplo, países como Estados Unidos y Reino Unido sugieren como consumo diario para un adulto de 5 a 7 porciones de frutas y al menos 5 porciones de verduras. En países en vías de desarrollo también están siendo consideradas a las frutas como una fuente importante de nutrientes básicos. De igual manera, se les toma muy en cuenta como material para exportación a países en donde las frutas no se producen o para satisfacer la demanda de productos importados como concentrados de jugos los cuales son ampliamente utilizados en la producción de bebidas (Arthey y Ashurst, 2001). Los frutos también pueden utilizarse como materia prima para la producción de una variedad de sub-productos, dando como resultado, productos de alta humedad, humedad intermedia o humedad reducida como son fruta en trozos, jugos, purés, mermeladas, frutas secas, polvos, etc. (Fernandes et al., 2011; Sinha et al., 2012; Celli et al., 2016). Por lo tanto, se requieren de procesos de conservación que aumenten la vida de anaquel de las frutas y productos derivados, ya sea para su consumo directo o bien como materia prima para la elaboración de otros productos. En la literatura han sido propuestos métodos de conservación basados en la reducción del contenido de humedad como la deshidratación, concentración, tratamiento osmótico o métodos basados en la disminución de la temperatura del producto como la refrigeración, congelación, almacenamiento en congelación, han sido propuestos (Silva et al., 2008; Fernandes et al., 2011; Verma y Singh, 2015). Sin embargo, algunos fenómenos físicos deteriorativos como la recristalización de hielo observado durante el almacenamiento congelado de frutas enteras o cortadas sigue siendo un problema grave de importancia primordial. Por ejemplo, la recristalización del hielo puede inducir cambios microestructurales excesivos dentro de los tejidos alimenticios provocando la

ruptura de la matriz alimenticia o el ablandamiento del tejido (Silva et al., 2008; Velickova et al., 2013; Celli et al., 2016). Por otra parte, los eventos de pegajosidad y deposición observados en las superficies del secador durante el secado por aspersión o los fenómenos de aglomeración que tienen lugar durante el almacenamiento de polvos de jugo de frutas, están asociados generalmente con las características termoplásticas de los azúcares presentes en las frutas (Aguilera et al., 1995; Bhandari et al., 1997; Boonyai et al., 2004; Silva et al., 2008; Verma and Singh, 2015). En este contexto, un diagrama de estado puede usarse para predecir los diferentes estados físicos de un alimento, así como para seleccionar las condiciones adecuadas para procedimientos de procesamiento o almacenamiento de productos alimenticios que contienen agua congelable y no congelable (Kunzek et al., 1999; Rhaman, 2010; Buera et al., 2011; Sablani et al., 2010; Balasubramanian et al., 2016; Slade y Levine, 2016). Un diagrama de estado es un gráfico de las temperaturas características térmicas en función del contenido de sólidos. Esto incluye la curva de congelación, la línea de transición vítrea y la condición de concentración máxima de congelación de tal manera que las propiedades termodinámicas tales como el punto inicial de congelación ( $T_m$ ), el punto final de congelación ( $T_m'$ ) y las temperaturas de transición vítrea ( $T_g'$ ,  $T_g$ ) pueden ser determinados fácilmente en función del contenido de sólidos o del contenido de agua (Rhaman, 2010; Sablani et al., 2010; Buera et al., 2011). Por ejemplo, el conocimiento del punto de congelación es útil para especificar la temperatura de transición entre las fases líquida y sólida durante el proceso de congelación/enfriamiento, así como para estimar el tiempo de congelación requerido (Rahman et al., 2002; James et al., 2009; Gharagheizi et al., 2014). La transición vítrea medida en condiciones de máxima formación de hielo ( $T_g'$ ) ha sido considerada como la temperatura de importancia crítica para el almacenamiento de productos congelados ya que la fase no congelada por debajo de  $T_g'$  logra un estado vítreo en el que el movimiento molecular se hace extremadamente bajo y la cristalización del hielo de agua se evita prácticamente (Goff, 1995; Le Meste et al., 2002; Silva et al., 2008; Syamaladevi et al., 2011; Syamaladevi et al., 2012). El desarrollo del proceso de secado y congelación de productos de alta humedad se puede predecir en el diagrama de estado. Además, la línea de transición vítrea es importante para caracterizar la

transición vítrea-caucho (o inverso) observada en productos alimenticios deshidratados y de baja humedad, ya que experimenta cambios en la temperatura y/o la humedad (Rhaman, 2010; Jaya y Das, 2009; Fabra et al., 2011). Abundantes estudios sobre la construcción y utilización de diagramas de estado para varias frutas en la literatura han sido reportados (Sá y Sereno, 1994; Kasapis et al., 2000; Bai et al., 2001; Sobral, 2001; Telis y Sobral, 2001; Telis y Sobral, 2002; Rahman, 2004; Silva et al., 2006; Moraga et al., 2006; Wang et al., 2008; Fabra et al., 2009, Syamaladevi et al., 2009; Guizani et al., 2010; Mosquera et al., 2011; Vásquez et al., 2013; Zhao et al., 2015). Sin embargo, fue notado que el uso de alimentos reales para estos fines es a menudo muy difícil porque la composición química de los frutos varía y depende del tipo de fruta, maduración, condición ambiental, prácticas culturales, y probablemente estos factores podrían conducir a discrepancias en los datos experimentales, incluso para la misma fruta (Ruiz-Cabrera et al., 2016). Para estudios fundamentales, los sistemas modelo pueden ser una alternativa para superar todas estas variabilidades. La sacarosa, la fructosa, la glucosa, la pectina y los ácidos naturales como el ácido cítrico son los principales solutos de las frutas y hortalizas, y representan más del 90% de su materia seca (Salunkhe y Kadam, 1995; Arthey and Ashurst, 2001; Sinha et al., 2012). Por lo tanto, en el presente estudio se trabajó con sistemas modelo elaborados con los solutos anteriormente mencionados en los que se controlaron sus correspondientes fracciones de masa de soluto y contenido de humedad. Además, una serie de experimentos con jugos de frutas naturales con composición química conocida fueron analizadas y se compararon estadísticamente los resultados obtenidos con sistemas modelo y jugos naturales.

## **2. Revisión bibliográfica**

### **2.1. Frutas y su importancia en la industria alimentaria**

Los sistemas alimenticios pueden ser definidos como sistemas heterogéneos y complejos en los que ocurren múltiples interacciones. Estos sistemas están compuestos por múltiples componentes de distinta naturaleza, los cuales proveen distintas propiedades de textura, nutricionales, de sabor, olor y distintos beneficios a la salud. Los alimentos están conformados principalmente por macronutrientes como proteínas, carbohidratos, lípidos, y agua, así como también micronutrientes como vitaminas, minerales, fitoquímicos, etc. (LeBail et al., 2002). Existe una variedad de combinaciones de estos componentes, por lo que en este trabajo se tiene el interés de estudiar los sistemas conformados principalmente por carbohidratos. Los sistemas ricos en azúcares son aquellos alimentos en los que su composición esta principalmente representada por carbohidratos de cadena corta, como son los monosacáridos y disacáridos. Los azúcares presentes en los jugos de fruta son azúcares de bajo peso molecular como la sacarosa, glucosa y fructosa, y ácidos orgánicos, por lo que los jugos de frutas caben dentro de la categoría de sistemas ricos en azúcares (Jaya y Das, 2009).

Las frutas están consideradas como productos agrícolas de gran importancia en la industria alimentaria porque son una excelente fuente de agua y azúcares, así como también de vitaminas, minerales, fitoquímicos y compuestos bioactivos cuyos atributos son principalmente atribuidos a su capacidad antioxidante (Mogara, et al., 2011). Ha sido encontrado que la concentración y tipo de azúcares en las frutas varía según el grado de maduración, estación, localidad, etc. Por ejemplo, en la fase inicial del desarrollo del durazno y del chabacano, los monosacáridos son más abundantes que la sacarosa; sin embargo, cuando los frutos alcanzan su estado comestible, los primeros se reducen a costa de la síntesis de sacarosa. Por ejemplo, en el plátano, el etileno provoca la activación de diversas enzimas que catalizan la síntesis de fructosa, glucosa y sacarosa a partir del almidón. Estos ejemplos proporcionan una idea de que la composición y proporción de los distintos azúcares que conforman a las frutas es

muy variable e incluso en la misma fruta, y el estado de maduración es un factor importante (Badui, 2006).

Otro aspecto a resaltar sobre las frutas, es que su consumo se encuentra en constante crecimiento en países desarrollados en los cuales son considerados como fuente de micronutrientes y como parte esencial de una dieta saludable. Por ejemplo, países como Estados Unidos y Reino Unido sugieren como consumo diario para un adulto de 5 a 7 porciones de frutas y al menos 5 porciones de verduras. En países en vías de desarrollo también están siendo consideradas a las frutas como una fuente importante de nutrientes básicos. También son utilizadas como material para exportación a países en donde estas no se producen o para satisfacer la demanda de productos importados como concentrados de jugos los cuales son ampliamente utilizados en la producción de bebidas (Arthey y Ashurst, 2001). Los frutos también pueden utilizarse como materia prima para la producción de una gama de productos, dando como resultado, productos de humedad intermedia o baja humedad como son fruta en trozos, jugos, purés, mermeladas, frutas secas, polvos, entre otros.

## **2.2. Factores determinantes en el deterioro de frutas**

La calidad microbiana y el deterioro determinan la vida de anaquel de las frutas y sus derivados; afecta sus propiedades nutricionales, estructura y propiedades organolépticas, dejando a las frutas y los productos a base de frutas en un estado incomible. Las frutas poseen defensas efectivas consistiendo en un tejido epidérmico grueso y con una concentración relativamente alta de ácidos orgánicos antimicrobianos. Sin embargo, la actividad de agua elevada, el alto contenido de azúcar y el ligero pH ácido de las frutas frescas pueden favorecer el crecimiento de hongos y levaduras.

Existen microorganismos denominados “patógenos verdaderos”, los cuales poseen la habilidad de infectar tejidos de las plantas, ya que producen uno o varios tipos de enzimas degradantes para vencer la dura e impermeable cobertura externa de las frutas, la cual actúa como el primer y más efectivo sistema de protección externo. Por otro lado, el deterioro de frutas ocurre como resultado de estrés biótico y abiótico, particularmente después del procesamiento poscosecha. Las frutas cosechadas

continúan respirando, utilizando los azúcares y ácidos orgánicos disponibles, reflejándose como un incremento en la producción de dióxido de carbono y etileno. De igual manera, en los procesos de lavado, enjuague, pelado y otros tratamientos, también pueden inducir daños importantes al tejido epidérmico protector, con la consecuente liberación de enzimas y sustancias relacionadas para el envejecimiento de las frutas (Sinha et al., 2012). Sin embargo, la vida de anaquel corta de las frutas no permite el correcto transporte y posterior consumo en donde éstos son requeridos. Por lo que se requieren de procesos de conservación que aumenten la vida de anaquel de las frutas y productos derivados, ya sea para su consumo directo o como materia prima para la elaboración de otros productos.

### **2.3. Preservación de frutas y derivados**

Para prevenir y/o aminorar el deterioro de las frutas y sus derivados, en la literatura se proponen métodos de preservación basados en la reducción del contenido de humedad como la deshidratación, concentración, tratamiento osmótico o métodos basados en la reducción de temperaturas como la refrigeración, congelación, almacenamiento en congelación, los cuales se describen a continuación.

#### **2.3.1. Procesos basados en la reducción del contenido de humedad**

La deshidratación ha sido desde la antigüedad, la operación unitaria más utilizada por el hombre para la conservación de sus alimentos. Consiste en la remoción del agua contenida en un material húmedo (sólido, semi-sólido, líquido) mediante la aplicación de energía térmica con la finalidad de obtener un producto de humedad reducida y estable a las condiciones ambientales (Mujumdar, 2007). La deshidratación ha sido muchas veces confundida con el proceso de concentración. Aunque ambos procesos persiguen el mismo objetivo, es decir, disminuir la cantidad de agua en un alimento fresco, difieren en la forma de hacerlo, así como en el producto final alcanzado. En el deshidratado, como producto final siempre será obtenido un producto sólido con un contenido de humedad del orden de 2-10% (base húmeda), mientras que la concentración generará como producto final una solución concentrada, dispersión o semisólido con un contenido de agua significativamente más elevado (Devahastin, 2000; Mujumdar, 2007). Por lo tanto, la deshidratación genera productos más

duraderos o vida comercial más prolongada como resultado de la reducción de la actividad de agua ( $a_w$ ) del alimento. Por otro lado, la deshidratación induce una disminución drástica de la masa y volumen del alimento, disminuyéndose costos de transporte y almacenamiento ya que se evitan el uso de sistemas de refrigeración o adición de conservadores para mantenerlos en buen estado antes de ser consumidos.

En la industria alimentaria, se dispone de una gran cantidad de secadores; destacando los secadores de bandejas, secadores rotatorios, secadores de lecho fluidizado, secadores tipo flash y secadores por aspersion (Mujumdar, 2007). Debido a ello, para una selección correcta del secador deben considerarse algunos aspectos primordiales como el estado físico del alimento, sensibilidad del producto a la temperatura y estabilidad oxidativa, así como el tiempo de secado. Por ejemplo, para alimentos sólidos y semisólidos pueden utilizarse los secadores de bandejas, liofilizadores y secadores de lecho fluidizado o lecho fijo mientras que para alimentos líquidos debe utilizarse primordialmente, el secador por aspersion o el liofilizador. Para productos cuya temperatura máxima de operación sea de 30°C y con posibilidades de oxidación se recomienda trabajar a vacío o con atmósferas inertes. Para tiempos de secado cortos del orden de los minutos se recomiendan secadores continuos mientras que, para procesos de secado superiores a una hora, es recomendable el secado por lotes.

Los métodos convencionales de secado más utilizados en la industria alimentaria tales como la liofilización, el uso de superficies calientes y contacto con aire caliente, se clasifican primordialmente en base a la forma en la que se suministra calor al material húmedo (Devahastin, 2000). La energía puede ser suministrada por convección mediante secadores directos utilizando aire u otro fluido de arrastre; por conducción, donde el calor es transferido a la muestra por contacto indirecto a través de una superficie sólida (secadores indirectos) y por radiación o de forma volumétrica, es decir, colocando el material húmedo en un microondas o dentro de un campo electromagnético de radiofrecuencia.

### **2.3.2. Procesos basados en la disminución de temperatura**

Los procesos de conservación fundamentados en la remoción de calor o disminución de temperatura del producto como la refrigeración, sub-enfriamiento y congelación han

sido utilizados de forma exitosa a nivel industrial para extender la vida de anaquel de diversos alimentos perecederos y proveer a los consumidores de productos cárnicos, frutas y verduras con características similares a los productos frescos (Marella y Muthukumarappan, 2013; James y James, 2014). Lo anterior se fundamenta en que la remoción de calor provoca que la movilidad molecular en los alimentos sea disminuida y como consecuencia, aquellas reacciones químicas y procesos biológicos que tengan lugar en los mismos, sean retardados conforme la temperatura es disminuida (Berk, 2013). En contraste a lo que ocurre durante un tratamiento térmico, la disminución de temperatura no destruye microorganismos o enzimas, sino únicamente deprime su actividad, permitiendo que la vida de anaquel de un alimento congelado pueda ser medida en años comparados a los días o meses que pueden ser alcanzados en un alimento refrigerado (James y James, 2014).

Los métodos de refrigeración, sub-enfriamiento y congelación, son categorizados primordialmente en función del rango de temperaturas en las cuales estos procesos son aplicados (Kaale et al., 2011; Berk, 2013). Así, la refrigeración consiste en la aplicación de un rango de temperaturas de 0 a 8 °C, particularmente, por encima del punto de congelación del alimento ( $T_m$ ), mientras que el sub-enfriamiento utiliza temperaturas ligeramente por debajo del punto de congelación (típicamente de -1 a -4 °C) sin ocurrencia de congelación o formación de cristales de hielo en el alimento. Con respecto a la congelación, ésta utiliza temperaturas muy por debajo del punto de congelación, convencionalmente establecida a nivel industrial por debajo de -18 °C (Kaale et al., 2011; Berk, 2013). Es de remarcarse que la acción conservante más fuerte de la congelación se debe no solo al uso de una temperatura más baja en relación a la refrigeración y sub-enfriamiento sino más bien a la disminución de la actividad de agua como resultado de la conversión de una parte del agua en hielo.

### **2.3.3. Problemas asociados a la deshidratación de jugos**

En el caso particular de los jugos de frutas; alrededor del 90% de los sólidos del jugo está constituido por azúcares de bajo peso molecular como la fructosa, glucosa y sacarosa (Arthey y Ashurst, 2001) los cuales se caracterizan por presentar valores de temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) entre 5 y 68 °C (Bhandari y Howes, 1999;

Khalloufi *et al.*, 2000; Jaya y Das, 2009). Estos azúcares pueden desarrollar un estado amorfo o vítreo cuando son sometidos a procesos de remoción rápida de agua como el secado por aspersion, debido al tiempo insuficiente para que ocurra la cristalización (Bhandari y Howes, 1999; Telis y Sobral, 2002; Roos, 2002; Jaya y Das, 2009; Shrestha *et al.*, 2007). Sin embargo, durante el secado las matrices amorfas pueden tender a la relajación estructural y comportarse como jarabes y pegarse en las paredes del secador por estar en contacto con el aire caliente provocando bajos rendimientos, problemas de operación y dificultad en la predicción de la calidad del producto (Mani *et al.*, 2002).

Por otro lado, los jugos de fruta en polvo se caracterizan por presentar un estado vítreo con estructura regular de viscosidad alta, con movilidad molecular reducida y con fenómenos de difusión limitados (Rahman, 2010; Ribeiro *et al.*, 2003; Santivarangkna *et al.*, 2011). Cuando este tipo de producto es almacenado a temperaturas por arriba de su  $T_g$  o expuesto a un cambio de humedad más elevado; también alcanzan el estado caucho exhibiendo una disminución considerable en la viscosidad (Jaya y Das, 2009; Santivarangkna *et al.*, 2011). Esto permite mayor movilidad promoviendo cambios estructurales como colapso y pegado del polvo (Foster *et al.*, 2006). Adicionalmente, otros fenómenos como la aglomeración, apelmazamiento y pérdida de compuestos volátiles están directamente relacionados con la temperatura de transición vítrea (Aguilera *et al.*, 1995; Labuza y Hyman, 1998; Roudaut *et al.*, 2004). Desde esta perspectiva, la máxima estabilidad de los jugos de fruta en polvo se podría conseguir almacenándolos por debajo de su temperatura de transición vítrea. Por otro lado, en la literatura ha sido sugerido que se puede establecer una zona segura de secado trabajando con temperaturas cercanas a la temperatura de transición vítrea para disminuir problemas de pegado y así producir polvos de flujo libre y aumentar el rendimiento del producto (Bhandari y Howes, 1999; Bhandari y Hartel, 2005; Jaya y Das, 2009).

Por lo tanto, es de gran importancia el uso de diagramas de estados para la predicción y optimización del proceso de secado por aspersion y estabilidad de los polvos de fruta durante su almacenamiento.

#### **2.3.4. Problemas asociados a la congelación de frutas y sus derivados**

Con la congelación a  $-18^{\circ}\text{C}$ , ha sido notado que la recristalización y formación de cristales grandes de hielo durante el almacenamiento pueden inducir daños celulares y/o estructurales, así como cambios en algunos parámetros de calidad como pérdida de vitaminas y firmeza en frutos, etc. (Evans, 2008; Tolstorebrov et al., 2016). Estos daños estructurales generalmente se manifiestan con la liberación de líquidos intracelulares y cambios de estructura cuando los frutos son descongelados. La formación de cristales de hielo puede degradar la calidad de los alimentos debido a que el volumen específico del hielo es más grande que el del agua y, por tanto, los cristales de hielo en expansión comprimen la matriz alimentaria.

Para aminorar o inhibir los aspectos negativos de la congelación, ha sido recomendado en la literatura el uso de la congelación rápida y el uso de crioprotectores (MarMuthukumarappan, 2013; James y James, 2014; Liu et al., 2014). Se conoce que la congelación rápida produce un mayor número de cristales pequeños adecuadamente distribuidos dentro de las células. La congelación rápida es extensivamente utilizada en la industria de helados los cuales son consumidos en forma congelada. Sin embargo, el efecto de la congelación rápida en la calidad de frutos que se consumen en forma descongelada aún se sigue discutiendo. Se sabe que los efectos benéficos de la congelación rápida se pierden durante el almacenamiento prolongado debido al fenómeno de recristalización del hielo porque no toda el agua presente en el alimento está debidamente congelada a la temperatura estándar de  $-18^{\circ}\text{C}$  (Marella y Muthukumarappan, 2013; James y James, 2014). Por otro lado, los crioprotectores son sustancias que protegen a los alimentos contra el daño por congelación al ralentizar y/o inhibir la velocidad de crecimiento de los cristales de hielo. Compuestos como el sorbitol, sacarosa, etilen glicol, polifosfatos, trehalosa, maltodextrinas, polidextrosa, péptidos e hidrolizados de proteínas, etc. han sido propuestos como crioprotectores efectivos en la industria de los alimentos (Liu, et al., 2014).

El mecanismo físico de protección de los crioprotectores todavía no ha sido bien comprendido, pero se cree que puede ser por interacción directa entre el crioprotector y alimento, por el establecimiento de puentes de hidrógeno entre el agua y crioprotector o bien por efecto encapsulante del crioprotector al alimento. Los crioprotectores generalmente se seleccionan con base a su bajo costo, amplia disponibilidad, que sean permitidos por la FDA (Food and Drug Administration) y que no impartan propiedades sensoriales adversas al producto (Liu et al., 2014). Por ejemplo, ha sido notado que algunos crioprotectores como la sacarosa y sorbitol a concentraciones bajas (5% w/w) son capaces de impartir un sabor dulce al alimento. Generalmente, la concentración a utilizar de los crioprotectores ha sido establecida por ensayos de prueba y error. Sin embargo, Harnkarnsujarit et al. (2014) proponen que las concentraciones de éstos sean establecidas en función del valor de la temperatura de transición vítrea ( $T_g'$ ) correspondiente a la concentración de máxima congelación, la cual es discutida a detalle a posteriori.

De acuerdo con la teoría de transición de fase y estado, los cambios de estado de los alimentos congelados, así como la temperatura adecuada del congelador pueden ser observados y predichos mediante un diagrama de estado (Buera et al., 2011; Ruiz.Cabrera et al., 2016). Un diagrama de estado es descrito a gran detalle posteriormente, pero se puntualiza aquí que por debajo de  $T_g'$ , la fracción concentrada por congelación alcanza el estado vítreo donde el movimiento molecular se hace extremadamente lento y cualquier cristalización de hielo de agua se vuelve prácticamente imposible y por lo tanto se puede esperar estabilidad a largo plazo de los alimentos congelados (Buera et al., 2011; Ruiz.Cabrera et al., 2016). Sin embargo, la mayoría de los alimentos tienen un valor de  $T_g'$  muy por debajo de la temperatura de congelación comercial ( $-18^{\circ}\text{C}$ ) y, por lo tanto, la caracterización de sus respectivos diagramas de estado son necesarios.

#### **2.4. Transiciones de fase y de estado**

Los alimentos y materiales biológicos son sistemas multicomponentes y/o multifásicos cuyo estado físico es usualmente gobernado por las transiciones térmicas de sus principales componentes, puesto que estos pueden experimentar cambios de fase y

estado en el intervalo de temperatura o presión en que son procesados, almacenados o consumidos (Roos, 1995a; Lebail et al., 2003). La transformación de un estado de la materia a otro se denomina transición de fase. Estas transiciones ocurren entre los tres estados físicos básicos de la materia (sólido, líquido y gas) y se pueden citar como ejemplos la cristalización, fusión, sublimación, vaporización, licuefacción y condensación. Las transiciones de fases también se les conoce como transiciones de primer orden y se caracterizan por una liberación o absorción de calor latente durante el cambio de estado isotérmico de un estado a otro (Liu et al., 2006). Se dice también que transiciones como la gelatinización del almidón y desnaturalización de proteínas presentan transiciones de fase de primer orden (Martínez-Navarrete et al., 1999).

La transición vítrea, es una transición de estado entre el estado amorfo y caucho (o viceversa), experimentada por una sustancia debido a un cambio de humedad o temperatura (Rahman, 2010; Sablani et al., 2010). La temperatura a la cual el sistema experimenta la transición se le conoce como temperatura de transición vítrea o Tg. Sin embargo, debido a la naturaleza de no equilibrio del sistema amorfo y puesto que el proceso de vitrificación o desvitrificación puede ocurrir en un intervalo amplio de temperaturas; a la transición vítrea preferentemente se le conoce como una transición de estado, en vez de transición de fase (Liu et al., 2006; Kasapis, 2006; Rahman, 2010). A las transiciones de estado se les conoce como transiciones de fase de segundo orden y no presentan liberación o absorción de calor latente durante el evento térmico.

Por ejemplo, en alimentos frescos, el agua puede existir en los tres estados básicos, gobernando varios efectos sobre las propiedades físicas, comportamiento, procesamiento, estabilidad microbiana y bioquímica y transiciones de fase de los productos (Roos, 1995b; Lebail et al., 2003). Por lo tanto, la congelación, concentración y deshidratación de alimentos frescos son formas de conservación que se basan principalmente en la solidificación y ebullición del agua, sin tomar en consideración al resto de los componentes. En el caso de los alimentos de humedad reducida como son los alimentos deshidratados, las transiciones de fase o estado de los polisacáridos, azúcares, lípidos y proteínas desempeñan un papel preponderante

en las propiedades físicas de estos productos. Por ejemplo, en productos como la pasta, el estado vítreo del almidón puede proveer importante información acerca del proceso de gelatinización.

#### **2.4.1. Caracterización de transiciones de fase y de estado**

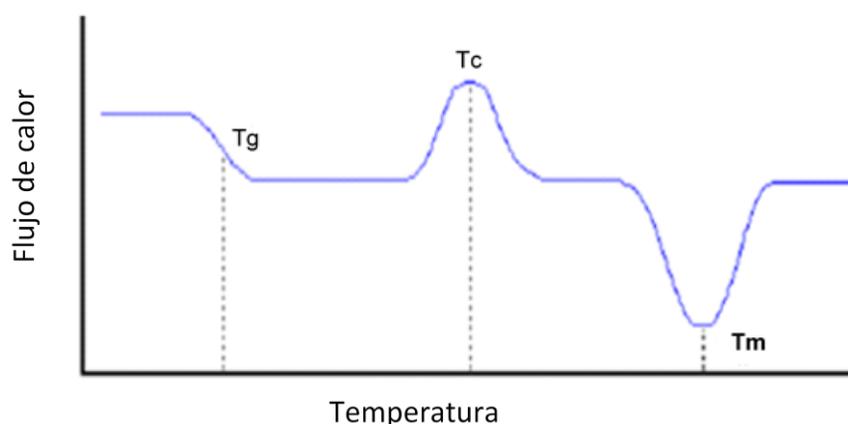
Las aplicaciones significativas del concepto de las transiciones de fase y estado tuvieron gran auge en los años 1980's cuando Levine y Slade propusieron sus méritos en el procesamiento, manejo y estabilidad de los alimentos (Levine y Slade, 1986). Por lo tanto, existió la necesidad de implementar métodos para la caracterización de las transiciones de fase y estado existentes en los alimentos. En la literatura se tienen identificados varios métodos para la caracterización de las transiciones de fase y estado entre las que destacan la calorimetría diferencial de barrido (DSC), calorimetría diferencial de barrido modulado (MDSC) como una extensión del DSC convencional, análisis térmico-mecánico dinámico (DMTA), y el análisis termo-mecánico (TMA). Una descripción a detalle de cada uno de estos métodos puede encontrarse en la tesis presentada por Saavedra-Leos (2011). Sin embargo, en este trabajo se hace énfasis a la calorimetría diferencial de barrido por haber sido el método utilizado para el análisis térmico de las muestras.

#### **2.4.2. Calorimetría diferencial de barrido**

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) ha sido una metodología ampliamente utilizada en distintas áreas de la ciencia incluyendo la ciencia de los alimentos, ciencia farmacéutica, ciencia de los materiales, bioquímica, física. Su uso representa ventajas como la facilidad de la preparación de la muestra, aplicación en alimentos con bajo y alto contenido de humedad, la posibilidad de utilizar un amplio rango de temperaturas y una metodología rápida (Ablett et al., 1992). Con el uso de ésta técnica, se puede obtener información de las propiedades térmicas y físicas de sistemas alimentarios, como transiciones de fase, transición vítrea, entalpías de fusión/cristalización, calor específico, calor latente, etc., como se muestra en la Figura 2.1.

La calorimetría diferencial de barrido mide la diferencia del flujo de calor entre una muestra y una referencia inerte (generalmente una celda vacía) en función de tiempo y temperatura, teniendo como resultado diagramas de flujo de calor en función de la

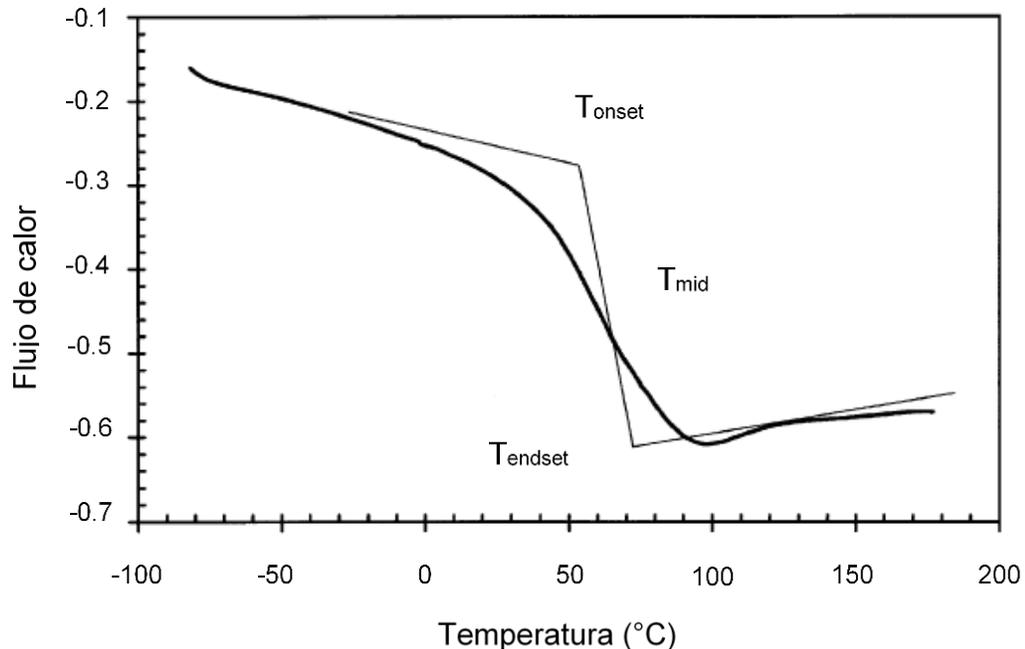
temperatura llamados termogramas. Un ejemplo de un termograma esquemático se presenta en la Figura 2.1, en donde, conforme se calienta la muestra, el primer cambio que ocurre corresponde a la transición vítrea ( $T_g$ ), identificada como un cambio en la discontinuidad en la pendiente de la curva. A medida que aumenta la temperatura, la muestra obtendrá la suficiente energía para alcanzar un estado cristalino, siendo caracterizado por la temperatura de cristalización ( $T_c$ ). Posteriormente, la muestra tendrá finalmente la energía necesaria para alcanzar la temperatura de fusión, y formar una matriz fundida. La integración del flujo de calor provee una entalpía, la cual está relacionada con el calor específico del material y la energía absorbida o liberada por el material debido a las transiciones de fase (Ablett et al., 1992).



**Figura 2.1. Representación gráfica de un termograma obtenido por Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) (Martínez-Navarrete et al., 1999).**

Durante un análisis DSC, la transición vítrea se presenta como un cambio endotérmico en el flujo de calor, el cual resulta de un aumento en la capacidad calorífica cuando un material se calienta por encima de su transición vítrea. Como se muestra en la Figura 2.2, la transición vítrea se presenta en un rango amplio de temperatura, por lo cual se determinan el valor de  $T_g$  al inicio, en el punto medio y al final del evento térmico. La amplitud de este rango de temperatura puede ser entre 10 y 20°C en alimentos de bajo peso molecular como los azúcares simples y superior a los 50 °C en alimentos de alto

peso molecular como los almidones. Sin embargo, muchos alimentos son sistemas multifásicos y/o multicomponentes, y presentan una transición vítrea global, solamente si tienen una buena miscibilidad y compatibilidad entre sus componentes.

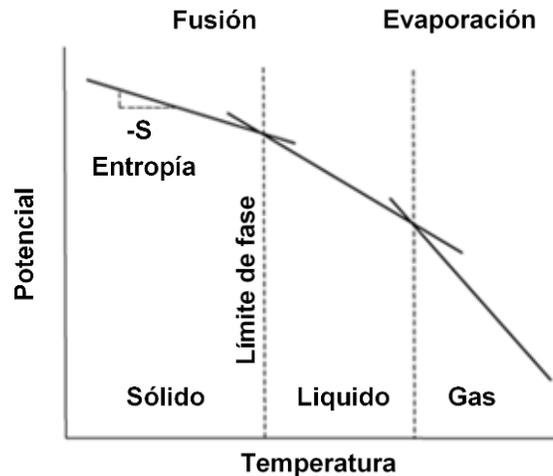


**Figura 2.2. Termograma obtenido por DSC con velocidad de calentamiento de 10°C/min (Mohammad., 2007).**

El valor de T<sub>g</sub> obtenida mediante DSC, puede ser afectada por la velocidad de calentamiento o enfriamiento a la cual son sometidas las muestras. Ha sido encontrado que los alimentos son calentados de manera más uniforme si la velocidad de escaneo es lenta. Debido a esto, se recomienda utilizar velocidades de calentamiento o enfriamiento entre 5 y 20°C/min para la determinación de T<sub>g</sub> en biopolímeros y sistemas alimentarios (Sablani et al., 2010). Sin embargo, otros factores como la pureza del material, contenido de agua residual, tiempo y método de medición, presencia de caramelización o la descomposición de los azúcares pueden afectar los valores de T<sub>g</sub> (Vanhal y Blond, 1999).

Como método de obtención de T<sub>g</sub> en sistemas cristalinos o semi-cristalinos con DSC, la muestra se calienta hasta la temperatura de fusión para fundir todos los cristales, para posteriormente enfriar rápidamente (Protocolo Melt-Quenching) con el propósito

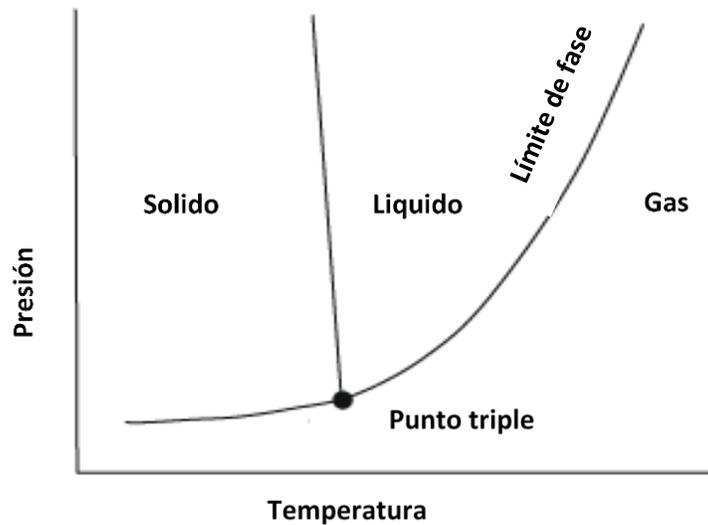
de que se forme la matriz amorfa, para finalmente recalentar la muestra y encontrar la temperatura de transición vítrea (Sá y Sereno, 1993; Roopesh et al., 2010).



**Figura 2.3. Potencial químico en función de la temperatura (Roos, 2012).**

Las transiciones de fase de primer orden de interés en sistemas alimenticios son principalmente aquellos en los que el agua se encuentra en estado congelado, líquido y cristalizado. Las propiedades de cristalización de los componentes alimenticios pueden mostrar una gran complejidad debido a la interacción soluto-solvente, mezclado de componentes miscibles y transiciones polimórficas. La comprensión de estructuras amorfas y agua en los sistemas alimenticios ha generado un gran avance para el control de la cristalización de componentes alimenticios en industrias alimenticias. La fase de un material puede ser descrito como una condición en la que el material es uniforme y exhibe un potencial químico que está distribuido homogéneamente (Roos, 2012). Un cambio de fase puede llevarse a cabo como resultado de un cambio en el potencial químico a un valor que favorezca la transformación del material a otra fase como se muestra en la Figura 2.3. Una definición sencilla del potencial químico es que define la energía de una sustancia dividida por su masa a condiciones termodinámicas específicas. En la Figura 2.3 se explica la estabilidad de cada fase en función del potencial químico mínimo que permita

existir en un equilibrio termodinámico (Roos, 2012). En el límite de fase, las moléculas que están en dos o más fases tienen el mismo potencial químico, estas fases coexisten a estas condiciones.

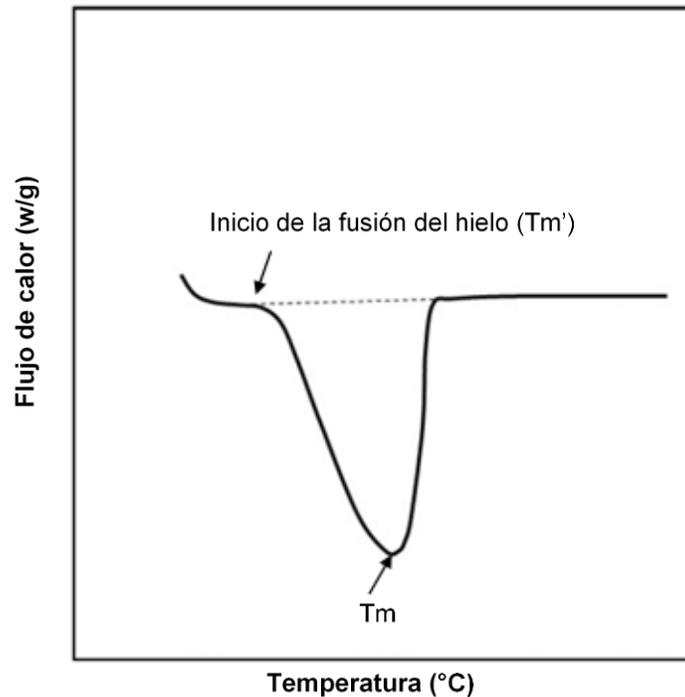


**Figura 2.4. Diagrama de fase (Roos, 2012).**

En el equilibrio no hay cambio de potencial químico, sin embargo, al aumentar la temperatura se presenta un incremento de la entropía y un decremento del potencial químico. Cruzar el límite de fase resulta en un cambio en la fase del material con el mínimo potencial químico. Los límites de fase pueden ser mostrados en un diagrama de fase, el cual puede ser usado como mapa de los estados básicos de la materia en función de temperatura, presión y volumen. La Figura 2.4 muestra un diagrama de fase simplificado, el cual describe el estado de una sustancia en función de la temperatura y presión (Roos, 2012). La cristalización puede resultar de la congelación de un estado líquido por debajo de su temperatura de fusión. En sistemas alimenticios, la cristalización y recristalización durante el almacenamiento es usualmente perjudicial debido a que cambia la mayoría de las propiedades del alimento y reduce su vida de anaquel.

En determinaciones con DSC, la temperatura a la cual el último cristal de hielo en el sistema alimenticio es fundido cuando se calienta es designada como la temperatura de fusión del hielo ( $T_m$ ) y la temperatura en que el primer cristal de hielo comienza a

fundir es designado como el inicio de fusión ( $T_m'$ ). La naturaleza de la curva de congelación depende en gran medida en la composición del alimento. En la Figura 2.5 se muestra como los valores de  $T_m$  y  $T_m'$  son caracterizados.  $T_m$  es determinado como la temperatura del pico de la endoterma de fusión y  $T_m'$  como el valor de la tangente de la endoterma.



**Figura 2.5. Termograma DSC de sistema alimenticio con agua congelable presentando  $T_m$  y  $T_m'$  (Sablani et al; 2010).**

## 2.5. Diagramas de estado en sistemas alimenticios

El estudio de la relación entre la temperatura de transición vítrea y fracción másica del agua ( $x_w$ ), fracción másica del sólido ( $x_s$ ) o actividad de agua ( $a_w$ ), han recibido, recientemente, un gran interés para la construcción de diagramas de estado simplificados o diagramas de estado complementados de diversos alimentos, como alimentos ricos en azúcares, frutas frescas, frutas deshidratadas, concentrados de fruta o frutas en polvo (Rahman, 2006; Jaya y Das, 2009; Rahman, 2010; Roos, 2010; Sablani et al., 2010; Buera et al., 2011). La principal ventaja del uso de un diagrama

de estado es el de identificar los diferentes estados del alimento, como el punto de congelación y la transición vítrea, lo que ayuda en el entendimiento de cambios complejos que ocurren cuando el contenido de agua y la temperatura del alimento cambian. También tienen aplicación en la identificación de las condiciones óptimas de estabilidad durante el almacenamiento, así como también en la selección de las condiciones óptimas de temperatura y contenido de humedad durante el procesamiento (Rahman, 2006; Rahman, 2010; Schmidt, 2004; Sablani et al., 2010). En la literatura han sido reportados diagramas de estado simples, los cuales consisten en la representación gráfica de  $T_g$  vs  $a_w$  o diagramas complementados  $T_g$  vs  $x_s$ . Los primeros son aplicables solamente para alimentos de humedad intermedia o humedad reducida mientras que los diagramas de estados complementados tienen aplicabilidad en todo rango de contenido de humedad. A continuación, se proporciona una descripción detallada de ambos diagramas de estados.

### **2.5.1. Diagramas de estado simplificados**

La actividad de agua ( $a_w$ ) y la transición vítrea, son conceptos que han sido acoplados en un diagrama de estado simple con la finalidad de entender y explicar cambios indeseables que pueden ocurrir durante el almacenamiento y distribución de alimentos de humedad reducida o de humedad intermedia. Por ejemplo, con las isotermas de sorción es logrado establecer tres tipos de agua en los alimentos siendo estas el agua de monocapa, agua de multicapa y agua libre (Rockland, 1969). El concepto de tres tipos de agua ha sido ampliamente utilizado para predecir el crecimiento microbiano, oxidación lipídica, actividad enzimática y no enzimática, así como la variación de la textura de algunos alimentos en función de la actividad de agua (Rahman, 2006). Por otro lado, la curva de transición vítrea expresada en función de la actividad de agua como el de la Figura 2.6, ha sido utilizada para predecir fenómenos físicos indeseables, inducidos por el fenómeno de transición vítrea como el colapso, recristalización, pegajosidad, apelmazamiento (Rahman, 2006; Moraga et al., 2006; Jaya y Das, 2009; Sablani et al., 2010). En la Figura 2.6, se muestra como ejemplo un diagrama de estado simplificado de lactosa pura. Por ejemplo, si se selecciona una temperatura de almacenamiento de 20°C, la  $a_w$  crítica y la humedad crítica son 0.38 y 8 g de agua/100g de sólidos secos, respectivamente. Si este producto fuese almacenado a la misma

temperatura, pero con humedades superiores a 10 g/100 g de sólidos secos, ocurre un cambio de su estado amorfo a un estado caucho, en donde comienzan a desencadenarse fenómenos de deterioro en el alimento.

El uso de  $T_g$  como temperatura de referencia para el establecimiento de condiciones de almacenamiento para productos con humedad intermedia a baja, como polvos de frutas, es ideal, debido a que con ello se asegura que la estructura del sistema se encuentre amorfa, disminuyendo así los fenómenos de deterioro que ocurren normalmente en el alimento (Syamaladevi et al., 2010). Sin embargo, los diagramas de estado simples como el mostrado en la Figura 2.6, han sido solamente utilizados para el manejo de alimentos con humedad de intermedia a baja, como son los productos en polvo o concentrados. Esto descarta productos con humedad alta en donde ocurren otro tipo de cambios físicos, además de la temperatura de transición vítrea. Por lo tanto, la obtención de diagramas de estado complementados es necesaria.

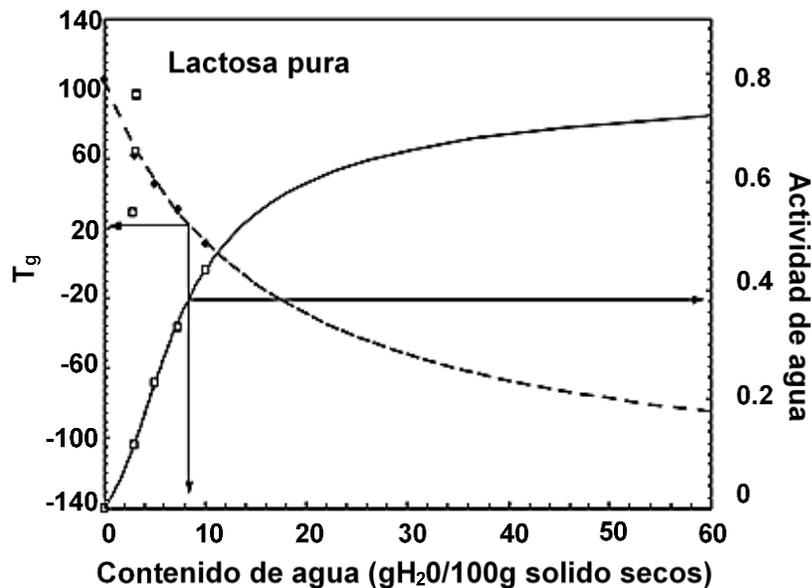


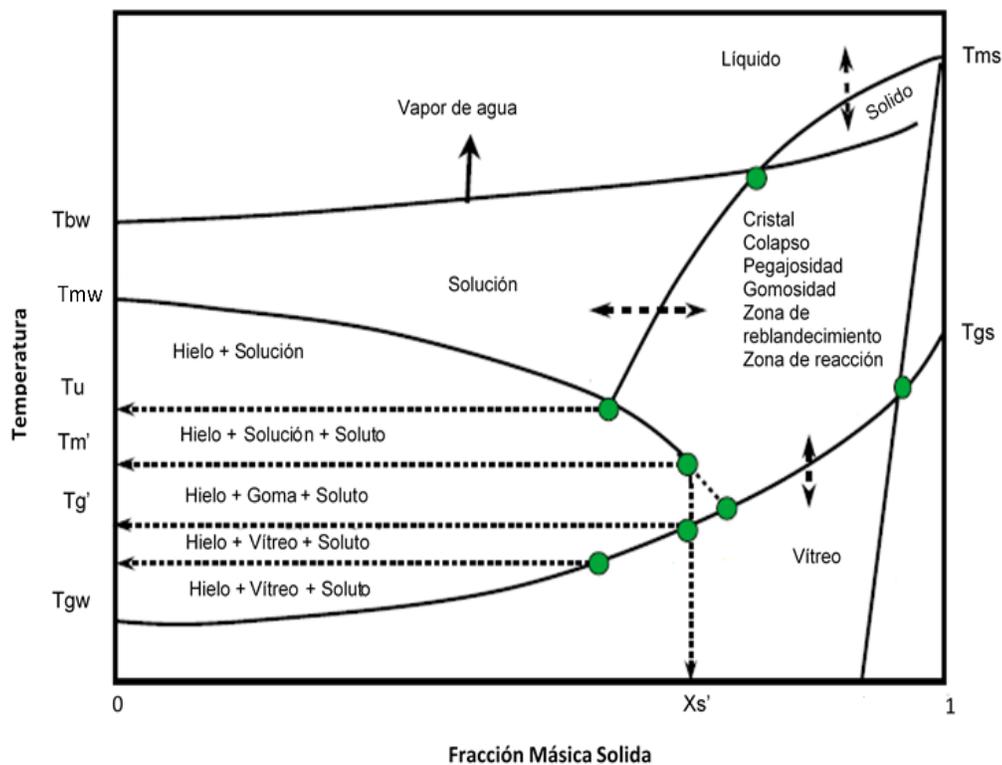
Figura 2.6. Isoterma de sorción relacionada con la curva de transición vítrea ( $T_g$ ) en función del contenido de humedad y actividad de agua para lactosa pura liofilizada (Omar y Roos, 2007).

### 2.5.2. Diagramas de estado complementados

Un diagrama de estado complementado es una representación gráfica de las propiedades térmicas, cuando la temperatura es graficada en función del contenido de sólidos en todo el rango de contenido de agua. Un diagrama de estado incluye la curva de congelación, la curva de transición vítrea y el punto de máxima congelación-concentración, de manera que las propiedades termodinámicas como el punto inicial de congelación ( $T_m$ ), punto final de congelación ( $T_m'$ ), la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) y la temperatura de transición vítrea de la solución de máxima congelación-concentración pueden ser fácilmente determinadas en función del contenido de sólidos o el contenido de agua (Rahman, 2006).

Los primeros diagramas de estado complementados son construidos considerando solamente la curva de disminución del punto de congelación ( $T_m$ ) y la curva de transición vítrea ( $T_g$ ) que muestra el efecto plastificante del agua sobre  $T_g$ . En la actualidad a los diagramas de estado complementados se les ha agregado la línea de solubilidad y micro-regiones que permiten identificar diferentes estados físicos de los alimentos como la región hielo-solución, hielo-solución-cristal, etc. En la Figura 2.7 se muestra de forma esquemática un diagrama de estado. En este diagrama, se pueden observar la línea de disminución del punto de congelación o mejor conocida como curva  $T_m$  ( $T_{mw}$  a  $T_m'$ ), la curva de solubilidad ( $T_{ms}$  a  $T_u$ ), la curva  $T_g$  ( $T_{gs}$  a  $T_{gw}$ ). En este diagrama de estado se encuentran también los parámetros característicos de la solución de máxima concentración-congelación, definida por  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $x_s'$ , la cual es formada por el agua ligada al soluto, que no está disponible para congelación. Los parámetros del punto de máxima concentración-congelación definen las micro-regiones antes mencionadas, dentro de las cuales se conoce la mezcla de estados y fases que presenta el alimento a cierta temperatura y humedad. Después de la curva de solubilidad y antes de la temperatura de transición vítrea del sólido anhidro ( $T_{gs}$ ) y sobre la curva de disminución de  $T_g$  se encuentra una zona donde se presentan fenómenos que aportan características indeseables al alimento, debido a que en esta zona se forma la matriz tipo caucho.

Existen abundantes estudios sobre la construcción y análisis de diagramas de estado complementados para una gran cantidad de frutas reportadas en la literatura, destacándose los frutos de arándanos, fresa, kiwi, uva, tomate, mango, piña, manzana, caqui, camu-camu, borjón, etc. (Sá y Sereno, 1994; Welte-Chanes et al., 1999; Khalloufi et al., 2000; Bai et al., 2001; Sobral et al., 2001; Telis y Sobral, 2001; Telis y Sobral, 2002; Moraga et al., 2004; Moraga et al., 2006; Silva et al., 2006; Goula et al., 2008; Wang et al., 2008; Syamaladevi et al., 2009; Jaya y Das, 2009; Fraba et al., 2009; Tanon et al., 2009; Mosquera et al., 2011).



**Figura 2.7. Diagrama de estado complementado con diferentes regiones y estados del alimento. Tbw, punto de ebullición; Tu, punto eutéctico; Tm', punto final de congelación; Tg', transición vítrea en el punto final de congelación; Tgw, transición vítrea del agua; Tms, punto de fusión del sólido anhidro; Tgs, transición vítrea del sólido anhidro (Rahman, 2006).**

Muchos investigadores han propuesto el diagrama de estado de carbohidratos puros y mezclas de ellos. Por ejemplo, Ruiz-Cabrera et al (2016) determinaron la relación

entre la composición del sistema y el comportamiento de los diagramas de estado complementado, por medio de una serie de 16 experimentos, en los que las concentraciones de sacarosa, glucosa y fructosa son variadas. En ese estudio es demostrado que la composición de azúcares debería ser considerada en el desarrollo de diagramas de estado para sistemas ricos en azúcares como son los jugos de frutas.

El uso de los diagramas de estado en alimentos es ampliamente útil, debido a que con ellos se conoce el comportamiento del punto de congelación, temperaturas de transición vítrea, información con la cual se pueden establecer temperaturas de almacenamiento para que los productos congelados no presenten crecimiento de cristales, o que alimentos deshidratados no alcancen el estado gomoso. Sin embargo, ha sido encontrado que el desarrollo de diagramas de estado para sistemas reales es usualmente muy difícil porque las frutas tienen composición de azúcares variables que depende de la variedad, maduración, temporada, cosecha, etc. y estos factores pueden ocasionar discrepancias en datos experimentales incluso para la misma fruta (Ruiz-Cabrera et al., 2016).

## **2.6. Componentes de un diagrama de estado complementado**

Para el correcto uso de un diagrama de estado, es necesario conocer los componentes de un diagrama de estado complementado, así como los cambios de estado y de fase que en estos delimitan.

### **2.6.1. Curva Tg**

La línea Tg en un diagrama de estado, es una representación gráfica de la temperatura de transición vítrea en función de la fracción másica sólida, la cual delimita las zonas de estado vítreo y caucho. Esta línea vítrea depende, en gran medida, de la composición química, del contenido de agua, del peso molecular y grado de polimerización de los alimentos, puesto que Tg aumenta a medida que aumentan los pesos moleculares, tamaño, rigidez y enlaces cruzados de los componentes y disminuye a medida que aumenta la flexibilidad de la cadena de biopolímeros. Sin embargo, en un diagrama de estado complementado, la disminución de Tg expresa solamente el efecto plastificante del agua. Este efecto se presenta debido a que el

agua tiene una  $T_g$  muy baja ( $-135\text{ }^\circ\text{C}$ ), lo que genera que a medida que aumenta la concentración de agua en el sistema, disminuya la  $T_g$  del sistema drásticamente.

### **2.6.2. Curva $T_m$**

La curva  $T_m$  representa la disminución del punto de congelación en función de la fracción másica sólida. A diferencia de la temperatura de transición vítrea, el punto de fusión es un proceso de equilibrio, ya que ni la velocidad de calentamiento ni enfriamiento afectan el punto de transición de fase del estado cristalino al estado líquido. Sin embargo, al igual que con la curva de disminución de  $T_g$ , la naturaleza de la curva de fusión es fuertemente dependiente de la composición del sistema. El punto de congelación se define como la temperatura en que los cristales de hielo y el agua del material alimenticio a una presión dada están en equilibrio. A presión atmosférica el agua pura congela a  $0^\circ\text{C}$  mientras que el punto de congelación de cualquier alimento puede ser menor que la del agua pura debido a la presencia de solutos cuya presencia disminuye el punto de congelación de acuerdo a la función de propiedades coligativas.

### **2.6.3. Condición de máxima congelación-concentración**

La vitrificación de los solutos en la condición de máxima congelación-concentración, fue investigada por Slade y Levine (1986). El estado de máxima congelación-concentración se forma a medida que el sistema, estando en condiciones de congelación, forma una solución que se concentra conforme el agua y solutos pasan de un estado líquido a uno cristalino. Esta solución concentrada llega a un punto en el que el agua contenida no puede congelar más, debido a que la solución se acerca a un alto contenido de sólidos y viscosidad alta, siendo la solución con máxima congelación-concentración. Roos y Karel (1991), sugieren, entre otras opciones, que la máxima formación de hielo era posible sólo a temperaturas por encima de la aparición de la transición vítrea de la solución de máxima congelación-concentración. Aunque Levine y Slade (1989) consideraron  $T_g'$  como una transición superior, parece que tanto las transiciones de  $T_g'$  y  $T_m'$  describen la transición vítrea compleja asociada con la formación de hielo y fusión.

## 2.7. Modelación matemática de las curvas Tg y Tm

Aunque Tg y Tm pueden ser obtenidos por una variedad de métodos, todos son procedimientos que consumen tiempo, especialmente si la muestra debe ser mantenida a temperaturas por debajo de 0°C para determinar Tm, Tg' y Tg'. Debido a esto, la predicción, en comparación a la medición directa de Tg o Tm en función del contenido de los constituyentes de una muestra o solución, puede ser una poderosa herramienta (Katkov y Levine, 2004). Las predicciones, sin embargo, tienen que presentar una buena correlación con los datos experimentales para poder utilizar los resultados en los diagramas de estado en sistemas reales. Para ello se utilizan ecuaciones predictivas de las curvas Tm y Tg, cuyos resultados son comparados con los datos experimentales reales de los sistemas en cuestión. La ecuación de Clausius-Clapeyron ha sido utilizada para la predicción de la curva de disminución de Tm y la de Gordon-Taylor para la curva de disminución de Tg.

### 2.7.1. Ecuación de Gordon-Taylor

La importancia que presenta la obtención de la temperatura de transición vítrea ha sido ya establecida, dejando claro por qué el encontrar una metodología más rápida y sencilla, es un objetivo buscado por algunos. Por consecuencia, el cálculo teórico o estimación de  $T_g$  cuando ya se conocen los componentes y la proporción de cada uno de ellos, es una tarea crucial para la predicción de la estabilidad de muestras almacenadas. Evitando así metodologías experimentales que darían los mismos resultados, pero en más tiempo. Los parámetros principales para la predicción e  $T_g$  en una mezcla de N componentes es la transición vítrea de sus componentes y la fracción en sus mezclas (Katkov y Levine, 2004).

Para la predicción de la curva de disminución de  $T_g$ , se utiliza la ecuación de Gordon-Taylor (Ecuación 1)

$$T_{gm} = \frac{x_s T_{gs} + kx_w T_{gw}}{x_s + kx_w} \quad (1)$$

En donde  $x_s$  y  $x_w$  son respectivamente la fracción másica del soluto y del agua,  $T_{gs}$  y  $T_{gw}$  es la temperatura de transición vítrea del soluto y del agua, y  $k$  es la constante

de Gordon-Taylor. La constante  $k$  puede ser obtenida de distintas formas. Representa la relación del volumen libre o densidades reales de los componentes químicos que conforman la muestra (Katkov y Levine, 2004). En este contexto, la constante de Gordon-Taylor puede ser obtenida con la siguiente relación:

$$k = \frac{(\rho_s T_{gs})}{(\rho_w)} \quad (2)$$

Mediante la Ecuación 2, se deduce también que la constante de Gordon-Taylor caracteriza el efecto plastificante del agua. El valor de  $k$  es alto cuando la relación  $T_{gs}/T_{gw}$  es alto, significando que la  $T_{gw}$  del diluyente (agua) es mucho menor que la  $T_{gs}$  del soluto (Katkov y Levine, 2004). Sin embargo, aunque la Ecuación 2 da una buena predicción para mezclas polímero-polímero o polímero-plastificante, no funciona tan bien con sistemas en los cuales el soluto no es un polímero de alto peso molecular. Para sistemas en los cuales los solutos son azúcares de bajo peso molecular, la constante  $k$  de Gordon-Taylor puede ser obtenido empíricamente ajustando la curva del diagrama de estado con datos experimentales. Los valores de la constante de Gordon-Taylor,  $k$ , para azúcares puros va de 3.02 a 6.56, mientras que, en frutas, varía desde 0.21 hasta 6.69 (Sablani et al; 2010). Mientras mayor sea el valor de la constante, mayor es el efecto plastificante del agua en la matriz alimenticia, es decir, mayor es la disminución de  $T_g$  a medida que la fracción másica del agua es mayor.

Un valor de  $k=1$ , la relación de  $T_g$  en función de la fracción másica del sólido es una línea recta, mientras que con valores de  $k>1$  se obtienen relaciones cóncavas y con  $k<1$  relaciones convexas (Sablani et al., 2010).

### 2.7.2. Ecuación de Clausius-Clapeyron

La evaluación de la disminución del punto de congelación por efecto de la concentración de soluto requiere de un método más simple de determinación, ya que los métodos experimentales requerirán de tiempo y recursos. Chen et al., (1990), modificaron la ecuación de Clausius-Clapeyron, para evaluar la disminución del punto de congelación en función de la composición de los solutos en los alimentos. Muchos alimentos como los jugos de frutas son sistemas multicomponentes compuestos por

carbohidratos, ácidos orgánicos y agua. Por lo tanto, el conocimiento del peso molecular promedio de la mezcla es requerido. Para ello, Chen et al., (1990) proponen la siguiente fórmula:

$$\lambda_w = \frac{\sum_i^n x_i}{\sum_i^n \frac{x_i}{M_i}}; \quad i = 1, 2, \dots, n \quad (3)$$

Donde  $\lambda_w$  representa el peso molecular efectivo de todos los solutos que constituyen la mezcla o el alimento;  $x_i$  es la fracción másica de los solutos;  $i$  indica cada componente. La ecuación de Clausius-Clapeyron modificada para evaluar la disminución del punto de congelación en función del contenido de sólidos, queda expresada de la siguiente manera:

$$\delta = \frac{\beta}{\lambda_w} \ln \left[ \frac{x_w - Bx_s}{x_w - Bx_s - Ex_s} \right] \quad (4)$$

Donde  $\delta = T_w - T$  es la disminución del punto de fusión,  $T_w$  es el punto de fusión del agua pura y  $T$  es el punto de fusión de la solución;  $\beta$  es la constante de Van't Hoff ( $\beta = 1860 \text{ K Kg/Kg-mol}$ );  $B$  es la masa del agua ligada por unidad de masa de soluto.  $E$  es la tasa entre el peso molecular del agua ( $M_w$ ) y el peso molecular de los solutos ( $M$ ). La Ecuación 4 es un modelo semi-empírico que requiere de una constante empírica para predecir los cambios en la disminución del punto de congelación para diferentes valores de pesos moleculares. Los parámetros  $E$  y  $B$  de la Ecuación 4 deben ser determinados empíricamente ajustando la curva de la disminución del punto de congelación del diagrama de estado con datos experimentales.

### **3. Justificación del presente estudio**

Las frutas pueden ser utilizadas para la producción de una gran variedad de productos, en los que se requieren de procesos de conservación basados en la reducción de temperatura o eliminación de humedad con el fin de aumentar sus respectivas vidas de anaquel. Sin embargo, en estos procesos pueden ocurrir fenómenos físicos de deterioro en los que la estructura de la fruta o sus derivados pueden ser afectados. En este caso los diagramas de estado pueden ser de gran ayuda para establecer las condiciones de proceso y almacenamiento ideales para estos productos. Sin embargo, los diagramas de estados son influenciados de manera significativa por los componentes de los alimentos y la composición química de los frutos varía ya sea en función de la fecha del año, estado de maduración y lugar de cultivo, etc. La sacarosa, fructosa, glucosa, pectina y ácidos naturales como el ácido cítrico son los principales solutos en las frutas representando más del 90% de la materia seca. En este caso, el uso de sistemas modelos con composición química controlada es utilizado como una alternativa para el análisis y elaboración de diagramas de estados representativos de los jugos de frutas. Por lo tanto, la curva de transición vítrea, la curva de congelación y el estado de máxima congelación-concentración son medidos por DSC y utilizados para el desarrollo de los diagramas de estado correspondientes. Adicionalmente, una serie de experimentos con jugos naturales de frutas con composición química conocida son realizados. De esta manera, los resultados obtenidos con los sistemas modelo y los sistemas con jugos naturales son comparados estadísticamente.

#### **4. Hipótesis**

Los modelos matemáticos desarrollados con sistemas modelo a base de sacarosa, glucosa, fructosa, ácido cítrico y pectina, generaran diagramas de estado con comportamientos similares a los diagramas de estado desarrollados con jugos naturales de frutas.

## **5. Objetivos**

### **5.1. Objetivo general**

Desarrollar diagramas de estado complementado de jugos de fruta naturales y de sistemas modelo, mediante la determinación de la curva de punto de congelación ( $T_m$ ), curva de transición vítrea ( $T_g$ ), el punto de máxima congelación-concentración ( $T_m'$ ,  $T_g'$ ,  $x_s'$ ) por medio de calorimetría diferencial de barrido (DSC).

### **5.2. Objetivos específicos**

- Desarrollar modelos matemáticos con sistemas modelo a base de sacarosa, glucosa, fructosa, ácido cítrico y pectina, y con ellos elaborar diagramas de estado de sistemas modelo.
- Determinar las transiciones de fase y estado y elaborar diagramas de estado de diversos jugos de frutas naturales.
- Comparar estadísticamente los diagramas de estado de sistemas modelo con los diagramas de estado de sistemas naturales.

## 6. Materiales y métodos

### 6.1. Elaboración de sistemas modelo anhidros

Fructosa (Producto No. F2543), glucosa (Producto No. G7528), sacarosa (Producto No. S0389), ácido cítrico (Producto No. 251275) y pectina de manzana (Producto No. 76282); todos en estado cristalino, grado reactivo y de Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO), son utilizados como solutos para la preparación de los sistemas modelo anhidros. Las composiciones promedio de carbohidratos, ácido cítrico y pectina reportados para varias frutas son utilizadas como referencia para establecer las proporciones de estos solutos en los sistemas modelo (Salunkhe and Kadam, 1995; Arthey and Ashurst, 2001; Sinha et al., 2012; Ywassaki and Canniatti-Brazaca, 2011).

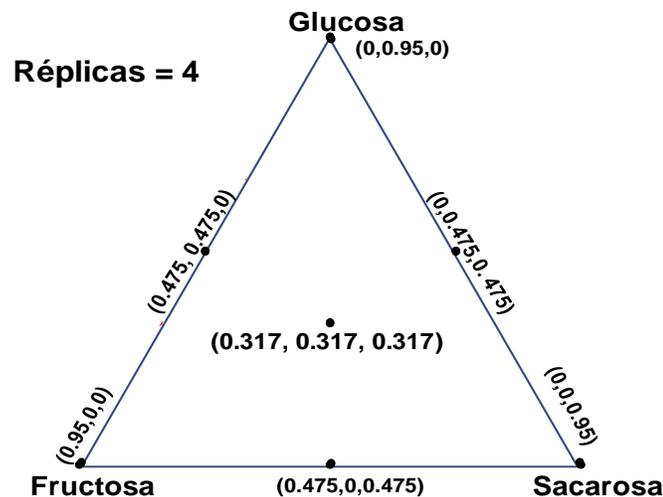


Figura 6.1. Diseño experimental centroide simple para mezclas de solutos.

De esta manera, la fracción másica de la fructosa ( $X_F$ ), glucosa ( $X_G$ ), sacarosa ( $X_S$ ), ácido cítrico ( $X_{AC}$ ) y pectina ( $X_P$ ) es establecida usando un diseño centroide simple (Figura 6.1) sujeto a las restricciones  $X_F + X_G + X_S = 0.95$ , y a  $X_{AC} + X_P = 0.05$ , donde las fracciones másicas de estos componentes suman 1 (Tabla 6.1).

**Tabla 6.1. Composición química de los sistemas modelo elaborados con base al diseño centroide simplex.**

| No. Exp | Fracciones másicas de los solutos |       |       |       |       | $X_{AC}$ | $X_P$ |
|---------|-----------------------------------|-------|-------|-------|-------|----------|-------|
|         | Corrida                           | $X_F$ | $X_G$ | $X_S$ |       |          |       |
| 1       | 5                                 | 0.950 | 0     | 0     |       |          |       |
| 2       | 7                                 | 0     | 0.950 | 0     |       |          |       |
| 3       | 4                                 | 0     | 0     | 0.950 |       |          |       |
| 4       | 10                                | 0.475 | 0.475 | 0     |       |          |       |
| 5       | 11                                | 0.475 | 0     | 0.475 |       |          |       |
| 6       | 8                                 | 0     | 0.475 | 0.475 | 0.025 | 0.025    |       |
| 7       | 1                                 | 0.317 | 0.317 | 0.317 |       |          |       |
| 8       | 2                                 | 0     | 0     | 0.950 |       |          |       |
| 9       | 3                                 | 0     | 0.475 | 0.475 |       |          |       |
| 10      | 9                                 | 0.950 | 0     | 0     |       |          |       |
| 11      | 6                                 | 0     | 0.950 | 0     |       |          |       |

El procedimiento de mezclado de solutos propuesto por Wungtanagorn y Schmidt (2001) es utilizado en este estudio. Para ello, los azúcares son triturados por separado utilizando un mortero y pistilo, en los cuales solamente partículas de tamaño menor a 0.212 micrómetros son utilizadas en las mezclas. El ácido cítrico y la pectina son utilizados sin ningún tratamiento previo. Las proporciones de cada soluto son pesadas individualmente y luego mezcladas agitándose en un recipiente de vidrio por 30 min, basándose en una masa total de aproximadamente 10 g. Se prepararon 11 sistemas modelo de acuerdo a como se muestra en la Tabla 6.1 y se someten a equilibrio en un desecador, el cual contiene Drierite® (sulfato anhídrido cálcico,  $aw \approx 0$ ) a temperatura ambiente, por al menos 4 semanas para obtener muestras completamente secas. El contenido de humedad de los sistemas modelo equilibrados en Drierite es determinado gravimétricamente secando aproximadamente 2.5 g de muestra en un horno de vacío a 60 °C por 24 horas (AOAC 1996).

## **6.2. Caracterización de los jugos de frutas y transformación a polvo**

Jugos extraídos de naranja, mango, piña, fresa y tuna, comprados en un mercado local, son utilizados en este estudio. Los jugos son filtrados utilizando una malla para remover las partículas sólidas como semillas y fibras. Para cada tipo de jugo se

obtuvieron lotes homogéneos mediante su correspondiente mezclado y después son caracterizados y preparados como se detalla a continuación.

### 6.2.1. Sólidos totales

Los sólidos totales (°Brix) en los jugos homogeneizados son medidos con un refractómetro digital (AR 200, Leica). El equipo es calibrado con agua destilada antes de cada medición. Las mediciones son realizadas por triplicado.

### 6.2.2. Cuantificación de pectina

Las sustancias pépticas comprenden un grupo extenso de polisacáridos vegetales cuya estructura básica está integrada por moléculas de ácido D-galacturónico unidos por enlaces glucosídicos A-D (1-4). El método de precipitación de pectina en forma de pectato cálcico es utilizado en este estudio (AOAC, 1996). Para ello, soluciones de ácido acético 1 N, cloruro de calcio 1 N e hidróxido de sodio 1 N son requeridos. El contenido de pectina es estimado mediante la Ecuación 5 y expresado en porcentaje:

$$\% \text{ pectina} = \frac{w_{m+p} - w_p}{s} * 100 \quad (5)$$

donde  $w_{m+p}$  representa la masa en gramos del papel filtro conteniendo pectina precipitada,  $w_p$  la masa del papel filtro sin pectina y  $s$  la masa en gramos de la muestra de jugo. Las mediciones son realizadas por triplicado.

### 6.2.3. Determinación de ácido cítrico

El contenido de ácido cítrico es determinado por el método de acidez titulable siguiendo la técnica de la AOAC (1996). La titulación es realizada con solución de hidróxido de sodio 0.1 N, utilizando fenolftaleína como indicador. La concentración de ácido cítrico es determinada con la Ecuación 6 y expresada en g/L:

$$\text{Acidez} \left( \frac{\text{g}}{\text{L}} \right) = \frac{(V_{\text{NaOH}}) \times (N) \times (\text{PeqAc.Cítrico})}{V_A} \quad (6)$$

En donde  $V_{\text{NaOH}}$  representa el gasto volumétrico de NaOH (mL),  $N$  la normalidad del agente titulante, en este caso NaOH,  $\text{PeqAc.Cítrico}$  representa al peso equivalente del ácido cítrico con un valor de 192 g eq<sup>-1</sup> y  $V_A$  que representa el volumen de la alícuota

de muestra utilizada (mL) . Las mediciones se hicieron por triplicado para cada jugo de fruta.

#### **6.2.4. Cuantificación de azúcares**

La cuantificación de glucosa, fructosa, sacarosa y otros azúcares en los jugos es llevada a cabo de acuerdo al método HPLC propuesto por Michel-Cuello et al., (2012) con un sistema HPLC Waters 600 (Milford MA. USA), el cual consiste en un detector de índice de refracción Waters 410, bomba de solvente y controlador 600. Como fase estacionaria, una columna de intercambio de iones Aminex HPX-87C (7.8 mm d.i. x 300 mm, Bio-Rad Hércules, Ca.) es utilizada. Agua grado HPLC con un flujo de 0.4 mL/min es utilizado como fase móvil. La columna es mantenida a una temperatura de 83 °C. El tiempo total de separación de carbohidratos es de 24 min y los azúcares presentes en la muestra son identificando comparando el tiempo de retención con los de azúcares de referencia (Kit de carbohidratos CAR-11 de Sigma-Aldrich).

#### **6.2.5. Elaboración de polvo de jugos de fruta**

Las muestras de jugos son primeramente colocadas en frascos del liofilizador y



**Figura 6.2.** Liofilizador IShin® mostrando la manera en que los frascos son aislados con espuma de poliestireno para obtener jugo de fruta en polvo.

después son congelados a una temperatura de -60 °C utilizando un congelador de laboratorio (ScientTemp Modelo 86-01A; Adrian, Michingan USA) durante 24 h. Para

minimizar el aumento de temperatura en las muestras congeladas debido a las condiciones ambientales, los frascos son aislados con espuma de poliestireno y después es conectado a la cámara de secado del liofilizador (Liofilizador ilShin®) tal y como se muestra en la Figura 6.2. Las muestras son deshidratadas a -40 °C con una presión de vacío de 5 mTorr y el secado es detenido cuando las mediciones de peso consecutivas son constantes.

Las muestras liofilizadas son después removidas y trituradas hasta obtener un polvo fino con mortero y pistilo, y posteriormente equilibradas en un desecador conteniendo Drierite® a temperatura ambiente durante 4-6 semanas para obtener muestras completamente deshidratadas como se muestra en la Figura 6.3. El contenido de humedad de los polvos liofilizados y equilibrados en Drierite es medido utilizando un horno a vacío a 60 °C por 24 h (AOAC 1996).

### **6.3. Preparación de muestras a diferentes contenidos de humedad**

Los sistemas modelo anhidros y jugos liofilizados, ambos equilibrados sobre Drierite® son subsecuentemente utilizados para la preparación de muestras con bajo y alto contenido de humedad. Para obtener muestras con contenido de humedad por debajo de 40% (Base húmeda), la metodología propuesta por Ruiz-Cabrera et al. (2016) es utilizada. En este caso, las muestras de polvo (5-10 mg), tanto para sistemas modelo como para sistemas reales, son pesados directamente en celdillas de DSC (TA instruments) y después son expuestos a una humedad relativa de 100% utilizando agua destilada. Para obtener muestras con concentración de humedad cada vez mayor, las celdillas son retiradas a intervalos de 15-30 min, después se sellaron herméticamente y se volvieron a pesar. El contenido de humedad es posteriormente calculado con la ganancia de peso después del equilibrio. Por otro lado, para obtener muestras de sistemas modelo con contenido de humedad mayor al 40% (Base húmeda), cantidades pre-calculadas de agua destilada son añadidas directamente a las muestras en tubos Eppendorf. Los tubos son almacenados a 4°C durante 24



**Figura 6.3. Desecador con Drierite ® utilizado para llevar a equilibrio los polvos de fruta y sistemas modelo.**

horas para promover una mezcla homogénea. Luego, alícuotas en el orden de 5-10 mg son tomadas de los tubos, colocados en las celdas para DSC (TA instruments) y selladas herméticamente. Todas las muestras, una vez selladas en las celdas, son dejadas a temperatura ambiente por 24 h para permitir el equilibrio de humedad entre muestras, así como también para verificar cualquier pérdida de peso ocurrido después de que estuvieran herméticamente selladas.

#### **6.4. Calorimetría diferencial de barrido**

El análisis térmico de las muestras preparadas a diferentes contenidos de humedad es llevado a cabo con un calorímetro diferencial de barrido Q2000 equipado con un sistema de enfriamiento RCS90 y un software de Universal Analysis 2000 ®, versión 6.4A (Figura 6.4). Los experimentos son realizados en una atmosfera inerte usando nitrógeno (ultra puro, grado 5.0, 99.99% de pureza) a un flujo de 50 mL/min. Una celdilla vacía DSC es utilizada como referencia para cada experimento. La metodología experimental propuesta por Ruiz-Cabrera et al., (2016) es utilizada para determinar el punto de congelación y la temperatura de transición vítrea en muestras conteniendo agua congelable. Para ello, muestras de aproximadamente 5 a 10 mg en

celdillas selladas son enfriadas a 10 °C/min desde temperatura ambiente hasta -90°C, en donde se mantienen por 5 min y luego son calentadas a temperatura ambiente a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Para muestras con concentración de agua en un rango intermedio (20% a 50%), se utiliza un procedimiento denominado annealing a una temperatura de  $T_m' - 1^\circ\text{C}$ . Es implementado con el motivo de maximizar la formación de hielo como es recomendado por diversos autores (Rahman, 2004; Zhao et al., 2015). En estos casos, el valor aparente de  $T_m'$  es determinado durante un análisis térmico preliminar de la muestra. Ha sido determinado que un tiempo de 30 min es suficiente para eliminar el pico de desvitrificación en las muestras. Por lo tanto, las muestras con concentraciones en el rango de 20% a 50% (b.h.) son enfriadas a 10°C/min de la temperatura ambiente a -90°C, se mantienen por 5 min y después calentadas a 10 °C/min hasta el valor de  $T_m' - 1^\circ\text{C}$ . Se mantienen a  $T_m' - 1^\circ\text{C}$  durante 30 min, y después enfriadas a -90 °C a 10°C/min y se mantiene por 5 min. Finalmente, las muestras son recalentadas a 5°C/min hasta alcanzar la temperatura ambiente. Los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  son asignados a los puntos medios de los primeros cambios de fase y estado, respectivamente, de los termogramas observados durante el proceso de calentamiento (Goff y Sahagian, 1996; Goff et al., 2003; Ruiz-Cabrera et al., 2016). El punto de congelación es determinado por el pico de temperatura en la endoterma de fusión ( $T_m$ ).



**Figura 6.4. Calorímetro diferencial de barrido DSC Q2000, TA Instruments, Lukens Drive, New Castle, Delaware 19720, United States.**

El protocolo calorimétrico conocido como melt-quenching y recomendado para la determinación de T<sub>g</sub> en sistemas alimenticios cristalinos o parcialmente amorfos, es utilizado para los análisis térmicos de las muestras con humedad reducida (agua no congelable) (Iijima et al., 2000; Jiang et al., 2008; Saavedra-Leos et al., 2012; Ruiz-Cabrera y Schmidt, 2015).

Entonces, muestras de 5 a 10 mg en celdas de aluminio herméticas son equilibradas en el DSC a 20°C, y luego calentado a 20 °C/min a una temperatura de calentamiento seleccionada para fusión completa de los cristales de azúcares (Ruiz-Cabrera y Schmidt, 2015). Posteriormente, las muestras son enfriadas a -90°C a 20 °C/min y se mantienen por 2 min para asegurar un estado amorfo. Finalmente, las muestras son re-calentadas a 10 °C/min a sus correspondientes temperaturas de calentamiento. Es importante resaltar que la temperatura máxima de calentamiento es obtenida de los análisis térmicos preliminares en sistemas modelo de frutas y polvos liofilizados, equilibrados en el recipiente con Drierite ®. Adicionalmente, muestras contenidas en celdas selladas con tapas no herméticas, son escaneadas con el protocolo calorimétrico previo, con el objetivo de determinar los valores correspondientes de T<sub>g</sub> de las muestras anhidras. Los valores de la temperatura de transición vítrea durante el enfriamiento y el calentamiento son reconocidos como un cambio en la línea base del flujo de calor en los termogramas DSC utilizando el software de análisis térmico, versión 4.4<sup>a</sup>. En ambos casos, los valores T<sub>g</sub> son determinados utilizando el método de la mitad de la altura de los termogramas DSC. Sin embargo, solo los valores T<sub>g</sub> medios que son medidos durante el calentamiento son los reportados en este estudio.

#### **6.5. Desarrollo de los diagramas de estado temperatura-concentración**

Los puntos de congelación experimentales (T<sub>m</sub>) y las temperaturas de transición vítrea (T<sub>g</sub>) medidos en los sistemas modelo y en los jugos naturales son modelados en función de la fracción másica sólida y luego utilizados para el desarrollo de sus correspondientes diagramas de estado. La disminución del punto de congelación en función del contenido de sólido es modelada con la ecuación de Chen (Rahman, 2004; Sablani et al., 2000) (Ecuación 7):

$$T_m = T_w + \left( \frac{\beta}{\lambda_w} \right) \ln \left( \frac{x_w - Bx_s}{x_w - Bx_s + Ex_s} \right) \quad (7)$$

Donde  $T_m$  y  $T_w$  son los puntos de congelación de la muestra y el agua pura, respectivamente.  $x_s$  es la fracción másica de sólidos.  $\beta$  es la constante molar de temperatura de congelación para el agua (1860 kg °C/mol).  $\lambda_w$  es el peso molecular del agua.  $E$  es la relación de masa molecular entre el agua y los sólidos, lo cual indica que es la división del peso molecular del agua entre el peso molecular del soluto.  $B$  es definida como la masa de agua ligada por unidad de masa de soluto.

La disminución de  $T_g$  debido al efecto plastificante del agua (disminución en el contenido de sólidos) en los sistemas modelo y jugos naturales es modelado con la ecuación Gordon-Taylor (Sablani et al., 2010) (Ecuación 1):

$$T_{gm} = \frac{x_s T_{gs} + kx_w T_{gw}}{x_s + kx_w} \quad (1)$$

Un procedimiento de regresión no lineal es utilizado para ajustar los datos experimentales a los modelos (Ecuación 7 y Ecuación 1) utilizando Microsoft Excel (2010), donde los parámetros  $E$ ,  $B$ ,  $T_{gs}$  y  $k$  son ajustados simultáneamente. La bondad del ajuste de ambos modelos es evaluada por el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

## 6.6. Modelación matemática

El modelo de Scheffe con interacciones es utilizado para evaluar el efecto de los solutos de los sistemas modelo ( $X_F$ ,  $X_G$ ,  $X_S$ ) sobre las variables de respuestas ( $E$ ,  $B$ ,  $T_{gs}$ ,  $k$ ,  $x_s'$ ,  $T_g'$ ,  $T_m'$ ) usando la Ecuación 8:

$$Y = \alpha_1 X_F + \alpha_2 X_G + \alpha_3 X_S + \alpha_4 X_F X_G + \alpha_5 X_F X_S + \alpha_6 X_G X_S + \alpha_7 X_F X_G X_S \quad (8)$$

Donde  $\alpha_i$  (para  $i = 1, \dots, 7$ ) representa los coeficientes de regresión del modelo y  $Y$  indica la respuesta de estudio de interés. El análisis de varianza (ANOVA) es desarrollado con un nivel de confianza de 95% ( $p < 0.05$ ). Modelos matemáticos jerárquicos son generados de tal manera que se quitan los valores de coeficientes no significantes.

### **6.7. Estudio comparativo entre sistemas modelo y jugos naturales**

Un análisis comparativo entre los promedios experimentales y los predichos por el modelo se realiza mediante una prueba de t-Student para medias de dos muestras pareadas, probando en la hipótesis nula que los promedios son iguales y en la hipótesis alterna que los promedios son diferentes y con un nivel confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) con Microsoft Excel (2010). Las fracciones másicas de los azúcares determinados mediante análisis HPLC son utilizadas en la Ecuación 8 para el cálculo de cada una de las variables de respuestas.

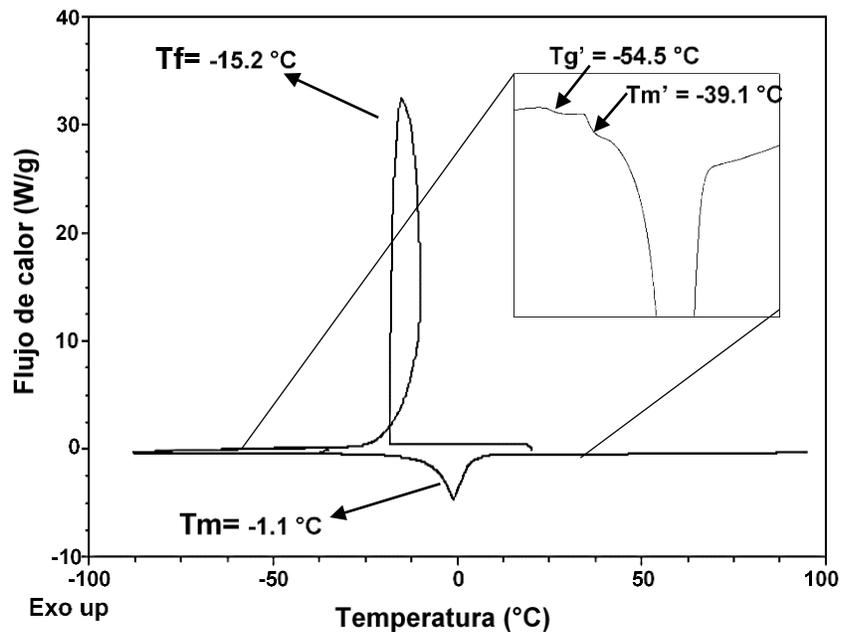
## **7. Resultados y discusión**

### **7.1. Transiciones térmicas en sistemas modelo con agua congelable**

De acuerdo con la metodología presentada en la Sección 6.4, se obtuvieron termogramas DSC de la evolución del flujo de calor en función de la temperatura para los once sistemas modelo a diferentes contenidos de humedad, en los cuales son caracterizadas las transiciones de fase y estado de cada uno. A manera de ejemplo, se muestra en la Figura 7.1 un termograma DSC correspondiente al experimento 7 (Tabla 6.1) elaborado con fructosa, sacarosa, glucosa, ácido cítrico y pectina con un contenido de humedad de 79.3% (b.h.). Durante el enfriamiento, se puede observar el evento de cristalización del agua, caracterizado por la temperatura  $T_f = -15.20^\circ\text{C}$ . A medida que la temperatura disminuye, la muestra alcanza el punto de nucleación o temperatura en la cual se forma el primer cristal de hielo y después se presenta un pico exotérmico con un ligero aumento de temperatura. El inicio de la cristalización produce este aumento de la temperatura provocada por el calor latente eliminado para la cristalización del agua hasta alcanzar su correspondiente punto de cristalización.

Durante el calentamiento de  $-90^\circ\text{C}$  a  $20^\circ\text{C}$ , la muestra presenta dos cambios en la línea base, ambas con características típicas de una transición vítrea seguida por un pico endotérmico bien definido, éste último caracterizado por la temperatura  $T_m = -1.09^\circ\text{C}$ . Entonces, la temperatura máxima correspondiente a la endoterma de fusión se considera en este estudio como el punto de fusión o congelación ( $T_m$ ). Los cambios inferior y superior de la línea base observados durante el calentamiento, han sido ampliamente referidos en la literatura como la temperatura de transición vítrea de la matriz con máxima congelación ( $T_g'$ ) y como la temperatura inicial de fusión de los cristales de hielo ( $T_m'$ ), respectivamente. Entonces, un enfoque similar es adoptado en este trabajo de investigación. Por lo tanto, los valores  $T_g'$  y  $T_m'$  son respectivamente, determinados a partir del punto medio de la primera y segunda transición en los termogramas DSC, tal y como se muestra en la Figura 7.1. También es importante resaltar que los procesos de congelación y fusión son considerados como eventos termodinámicos completamente reversibles, indicando que la temperatura de cristalización ( $T_f$ ) debería ser igual a la temperatura de fusión del hielo

( $T_m$ ) (Rahman, 2006; Rahman et al., 2005). Sin embargo, existe una gran diferencia entre el valor de  $T_f = -15.20^\circ\text{C}$  y  $T_m = -1.09^\circ\text{C}$ . De manera general puede establecerse que los valores de  $T_f$  son inferiores a los valores de  $T_m$  reafirmando que la cristalización y fusión del hielo son procesos completamente irreversibles y que se requiere un mayor gasto energético para alcanzar el estado cristalino que el estado fundido. La cristalización involucra el arreglo de las moléculas desordenadas hacia una estructura cristalina completamente ordenada, requiriendo un arreglo inicial de un poco de moléculas para formar un núcleo estable para el crecimiento de los demás cristales. Desde esta perspectiva, para la elaboración de los diagramas de estado, como punto de congelación o fusión del hielo, generalmente se determina a partir del endoterma de fusión y no del exoterma de cristalización (Rahman, 2006; Rahman et al., 2005).



**Figura 7.1. Termograma DSC mostrando la forma en que  $T_f$ ,  $T_m$ ,  $T_g'$ ,  $T_m'$  son caracterizados en el experimento 7 preparado con 79.3 % de humedad (b.h.).**

El efecto de la composición química y del agua en las transiciones de fase y de estado, se muestra en los termogramas del experimento 1 (Figura 7.2, Tabla 6.1), el cual es elaborado con fructosa, ácido cítrico y pectina y acondicionado a 87.4, 70.6, 52.2 y 42.4% (b.h.). En la Figura 7.2 se puede observar que el punto de congelación ( $T_m$ ) del

agua disminuye conforme aumentó el contenido de sólidos en las muestras, ya que  $T_m$  varía desde  $-0.64$  a  $-18.8^\circ\text{C}$  cuando el contenido de humedad es variado desde  $87.4$  a  $42.4\%$  (b.h). También puede mostrarse que en todos los casos los sistemas presentaron valores de  $T_m$  por debajo del punto de congelación del agua, el cual es alrededor de  $0^\circ\text{C}$  a  $1$  atm de presión (James et al., 2009; Marella y Muthukumarappan, 2013). El punto de congelación se define como la temperatura en la que los cristales de hielo y el agua del material alimenticio a una presión dada están en equilibrio (Marella y Muthukumarappan, 2013). El hecho de que las muestras presentaron valores de  $T_m$  por debajo de cero es debido a que la presencia de solutos en el medio acuoso aumenta la complejidad de la cristalización, en la cual la transferencia de masa juega un papel importante. Por otro lado, la presencia de solutos reduce la presión parcial del agua y por lo tanto, el equilibrio entre las dos fases (hielo-agua), solamente puede alcanzarse a través de una reducción de la temperatura, conocido este efecto como la disminución del punto de congelación del agua (Rahman, 2006).

En lo que respecta a los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$ , puede observarse en la Figura 7.1 que independientemente del contenido de humedad de las muestras, éstos tienden a ser constante. En este caso en particular, un valor promedio de  $T_g' = -54.52^\circ\text{C}$  y un valor promedio de  $T_m' = -43.87^\circ\text{C}$ , es encontrado cuando el contenido de humedad de las muestras varió desde  $87.4$  a  $42.4\%$  (b.h). Un fenómeno similar es también observado en el escaneo de soluciones de azúcares (Ablett et al., 1992; Goff y Sahagian, 1996; Goff et al., 2003), en proteínas sarcoplasmáticas (Orlien et al., 2003) así como en la fruta de dátil (Rahman, 2004).

También se puede observar que las matrices con humedad intermedia ( $42.2\%$  b.h.) como el de la Figura 7.2d, no presentan el pico exotérmico característico de la cristalización del agua dando la impresión de que no existe agua congelable durante el proceso de enfriamiento. Sin embargo, durante el proceso de calentamiento estas muestras presentaron una exoterma justo antes del pico de fusión. Esta exoterma ha sido interpretada como un fenómeno de desvitrificación o como la formación de hielo por efecto de recalentamiento de la matriz (Rahman, 2006; Rahman, 2004; Brake y Fennema, 1999). El fenómeno de desvitrificación también ha sido observado en otros

productos ricos en azúcares como grosella china, pulpa de dátil y tomate (Wang et al., 2008; Rahman, 2004; Baroni et al., 2003). En estos casos es implementado el proceso denominado annealing consistente en mantener la muestra a la temperatura  $T_m' - 1^\circ\text{C}$  durante un periodo de 30 min tal y como es explicado en la Sección 6.4. Como puede notarse en la Figura 7.2d, un tiempo de 30 min es suficiente para maximizar la formación de agua congelable y poder determinar así de manera precisa los valores de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_m$  durante el nuevo recalentamiento desde  $-90^\circ\text{C}$  hasta  $20^\circ\text{C}$ . A cada producto en particular se recomienda encontrar el tiempo necesario de annealing. Es utilizado tiempo en procesos de annealing desde pocos minutos hasta días, los cuales maximizan la formación de hielo y determinar los valores precisos de  $T_g'$ ,  $T_m'$  en las matrices alimentarias (Rahman, 2004; Brake y Fennema, 1999).

## **7.2. Transiciones térmicas en sistemas modelo con agua no congelable**

Con la intención de mostrar el procedimiento utilizado para el análisis térmico en muestras con agua no congelable, el termograma DSC de la Figura 7.3 muestra el proceso completo de calentamiento-enfriamiento-recalentamiento obtenido para el experimento 7 (Tabla 6.1) elaborado con fructosa, sacarosa, glucosa, ácido cítrico y pectina en su estado anhidro. Durante el calentamiento, la muestra solamente presenta un pico de fusión ( $T_m$ ) muy amplio con un valor aproximado del orden de  $111^\circ\text{C}$ . Es probable que la presencia de ácido cítrico y pectina en la matriz causaron la formación de enlaces débiles o la formación de sitios con defectos en la estructura ordenada de los cristales de los azúcares, dando como resultado valores de puntos de fusión relativamente bajos en comparación al valor de punto de fusión de la fructosa, glucosa, sacarosa en sus estados puros que son respectivamente,  $135^\circ\text{C}$ ,  $159^\circ\text{C}$ ,  $194^\circ\text{C}$  (Saavedra-Leos et al., 2012). Sin embargo, es importante resaltar que a pesar de que la muestra está conformada por múltiples componentes, solamente se presenta una sola temperatura de transición vítrea, durante el enfriamiento ( $T_{gC}$ ) y durante el recalentamiento ( $T_{gH}$ ), confirmando una buena miscibilidad y compatibilidad entre los componentes (Orford et al., 1990; Seo et al., 2006). Sin embargo, es observado que el rango de temperatura de la transición vítrea durante el enfriamiento es más amplio que el rango de temperatura durante el calentamiento y los valores de  $T_{gH}$  son ligeramente

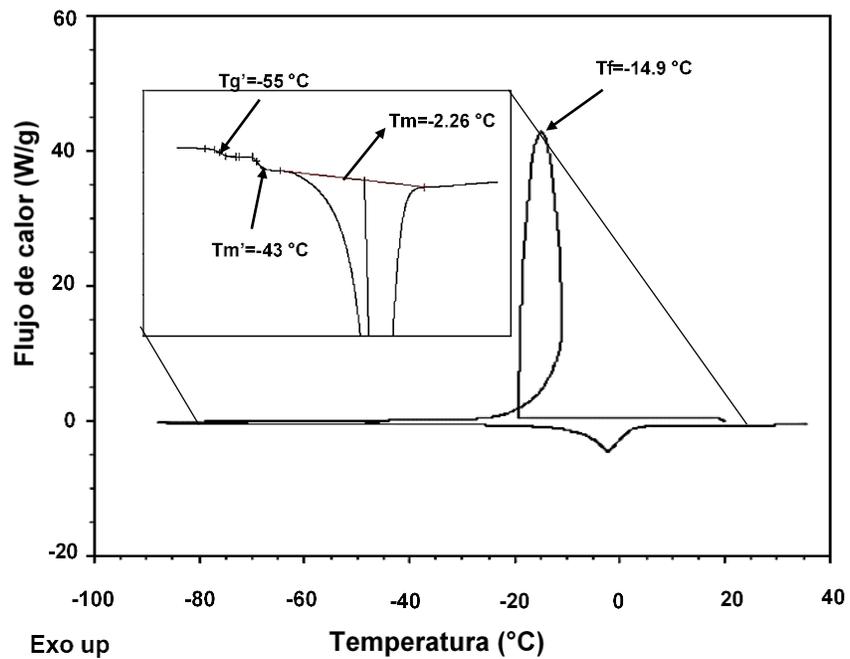
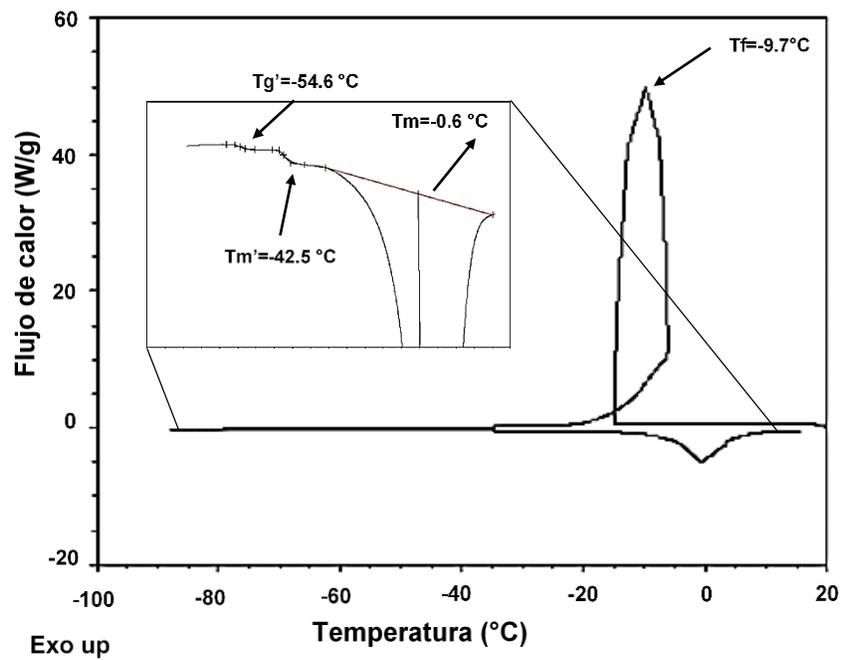


Figura 7.2. Flujo de calor en función de la temperatura del experimento 1 de la Tabla 6.1 preparado a diferente contenido de humedad (b.h). (a) 87.4%, (b) 70.5%, (c) 52.2%, (d) 42.4%.

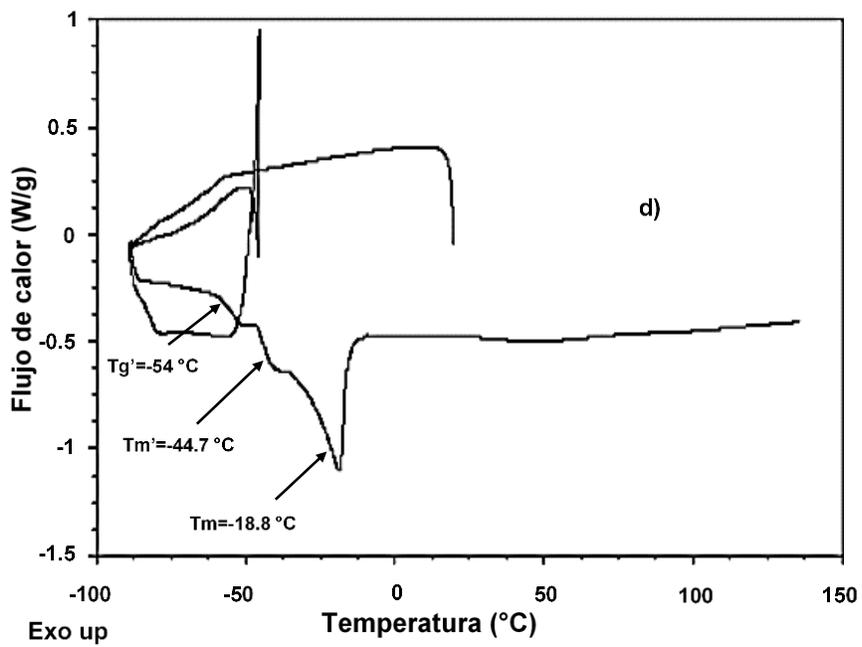
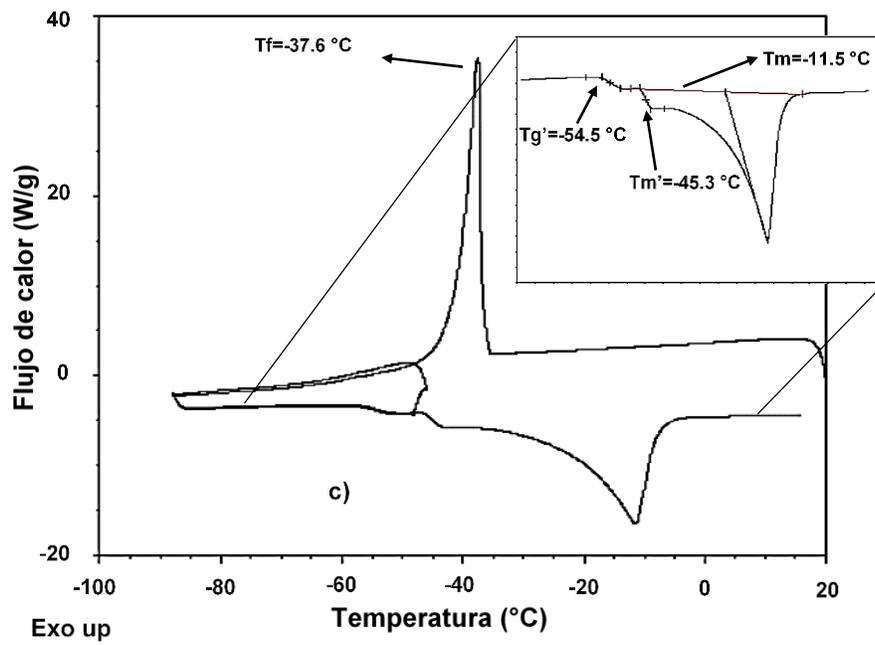


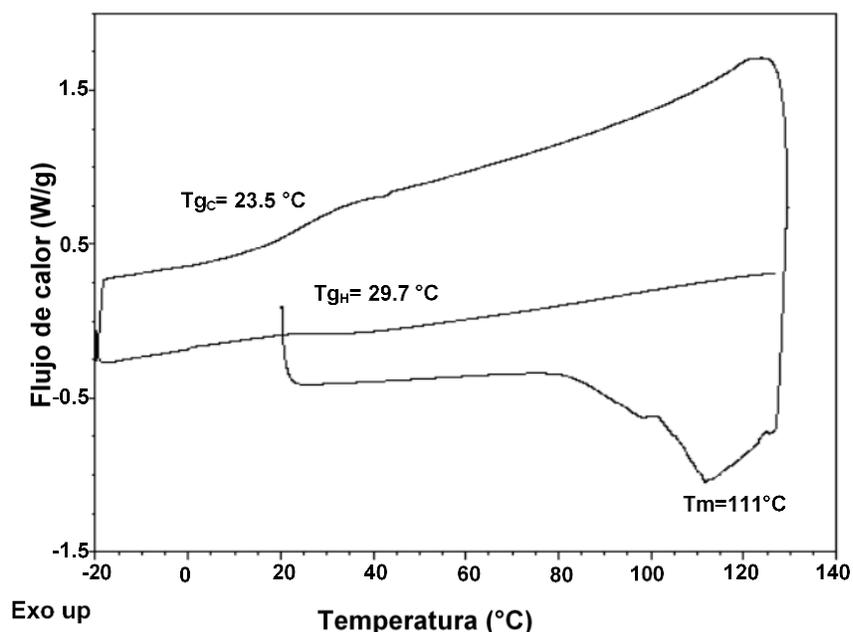
Figura 7.2. Continuación.....

superiores a los valores de  $T_g$ . Existen varios factores que pueden contribuir a esta diferencia y entre los más importantes se mencionan la diferencia entre la velocidad de enfriamiento y calentamiento utilizadas, así como la asimetría y la histéresis exhibida por la capacidad calorífica durante el enfriamiento y el calentamiento (Simatos et al., 1996; Keys et al., 2013). Velocidades de enfriamiento y calentamiento idénticas pueden ser utilizadas, sin embargo, se requiere un enfriamiento lo suficientemente rápido del material para evitar la formación de un estado de equilibrio cristalino. En este caso, el escaneo de las velocidades de 5 y 10°C/min se recomiendan comúnmente para la determinación de  $T_g$  a partir de las curvas de calentamiento (Schmidt, 2004; Sablani et al., 2010).

También se ha señalado en la literatura, que las transiciones vítreas a menudo se extienden sobre un gran rango de temperatura debido a una amplia distribución de los tiempos de relajación o a las transiciones no resueltas que corresponden a los diferentes componentes, así como a la heterogeneidad del peso molecular de los componentes en la mezcla (Gontard y Ring, 1996; Le Meste et al., 2002).

En la Figura 7.4, se presentan los termogramas del experimento 1 (Tabla 6.1) consistente en fructosa, ácido cítrico y pectina y acondicionado entre 4 y 18.5% (b.h). En los termogramas de la Figura 7.4, es observado que a medida que el contenido de humedad es aumentado en el sistema, la temperatura de fusión de los sistemas varía desde 109.6 °C a 56.38 °C. Lo anterior ocurre debido a que la fuerza de los enlaces en que se encuentran ordenados los cristales, determina la temperatura de fusión del cristal, de manera que, si el enlace del cristal es débil, su punto de fusión es bajo. Entonces, la disminución del punto de fusión observado en los azúcares puede ser atribuido a la formación de sitios de defecto en los que los enlaces son más débiles, generados por el efecto de la disolución de los azúcares en el agua.

Se puede observar que el valor de  $T_g$  va disminuyendo a medida que aumenta la concentración de humedad en la mezcla. Este fenómeno se presenta debido al efecto plastificante del agua, ya que tiene una  $T_g$  muy baja, es decir, -135 °C.



**Figura 7.3. Termograma DSC analizado para la determinación de  $T_{gC}$  y  $T_{gH}$  en el experimento 7 de la Tabla 6.1 en su estado anhidro.**

El mayor valor de  $T_g$  lo presenta la muestra con contenido de humedad de 4% (Figura 7.4a,  $T_g=16.19$  °C) y el valor menor lo presenta la muestra con humedad de 12.5% (Figura 7.4d,  $T_g= -55.26$  °C). Se observa también que la endoterma que representa la estructura cristalina de los azúcares ya no se presenta en el segundo calentamiento debido a que ahora el sistema presenta un estado amorfo y siendo  $T_g$  una transición de estado, no presenta un pico ni una energía latente asociada al evento.

En las imágenes no se incluye el inicio y el final de la transición vítrea, pero estas representan un rango en la cual la matriz cambia a su estructura a vítrea. Las transiciones vítreas a menudo se extienden sobre un gran rango de temperatura debido a una amplia distribución de los tiempos de relajación o a las transiciones no resueltas que corresponden a los diferentes componentes, así como a la heterogeneidad de los componentes en la mezcla (Le meste et al., 2002).

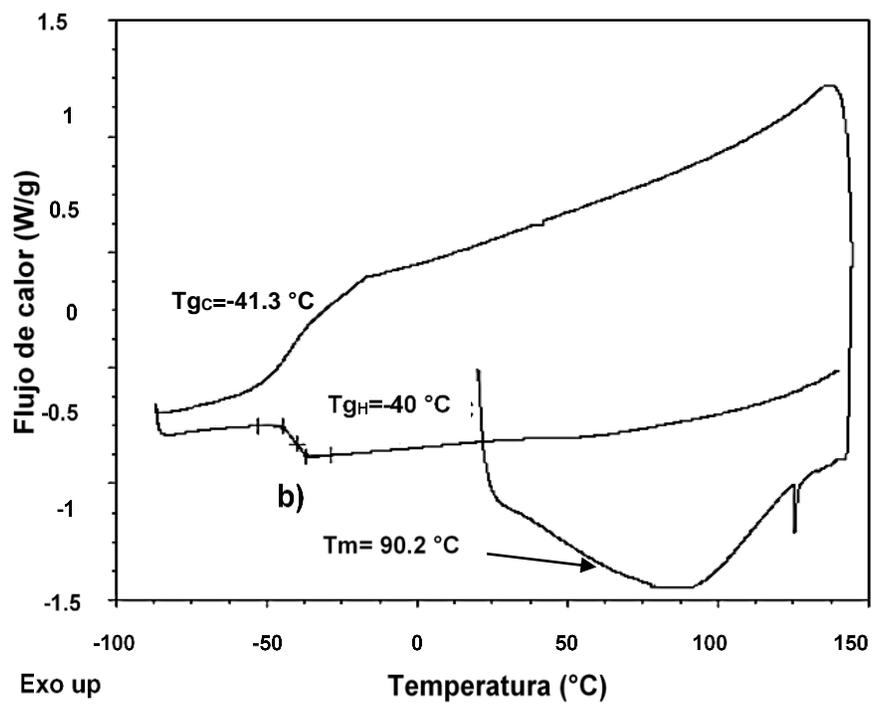
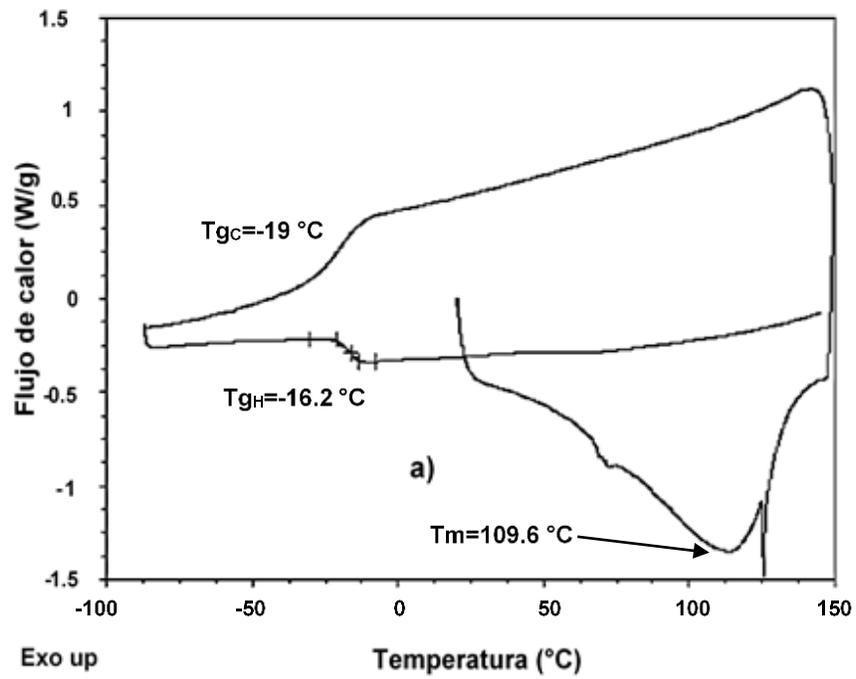


Figura 7.4. Termogramas DSC analizado para determinación de  $T_{gC}$  y  $T_{gH}$  en el experimento 1 (Tabla 6.1) acondicionado a diferentes contenidos de humedad (b.h.). (a) 4%, (b) 12.5%, (c) 15.8% y (d) 18.5 %

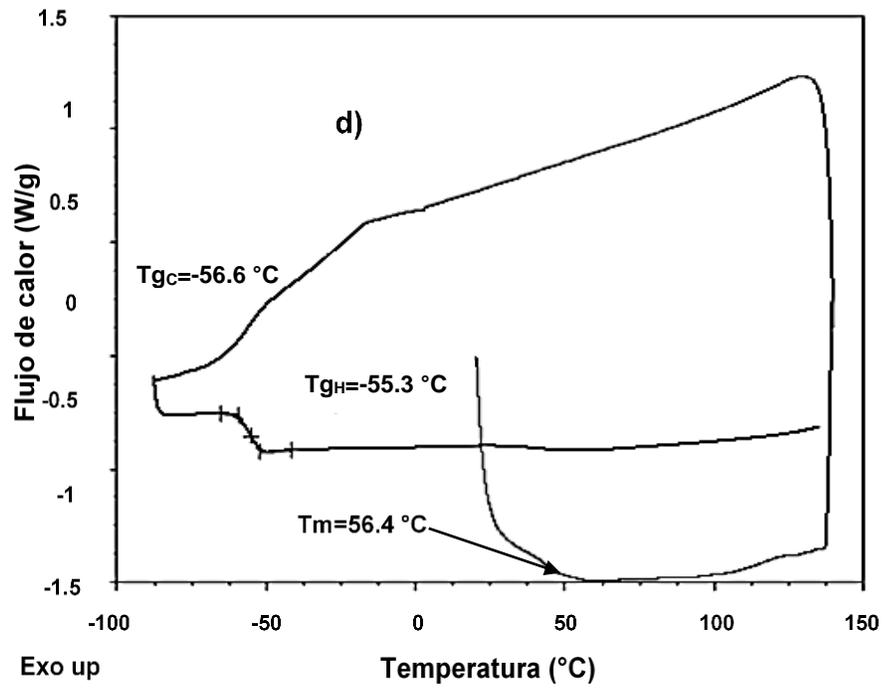
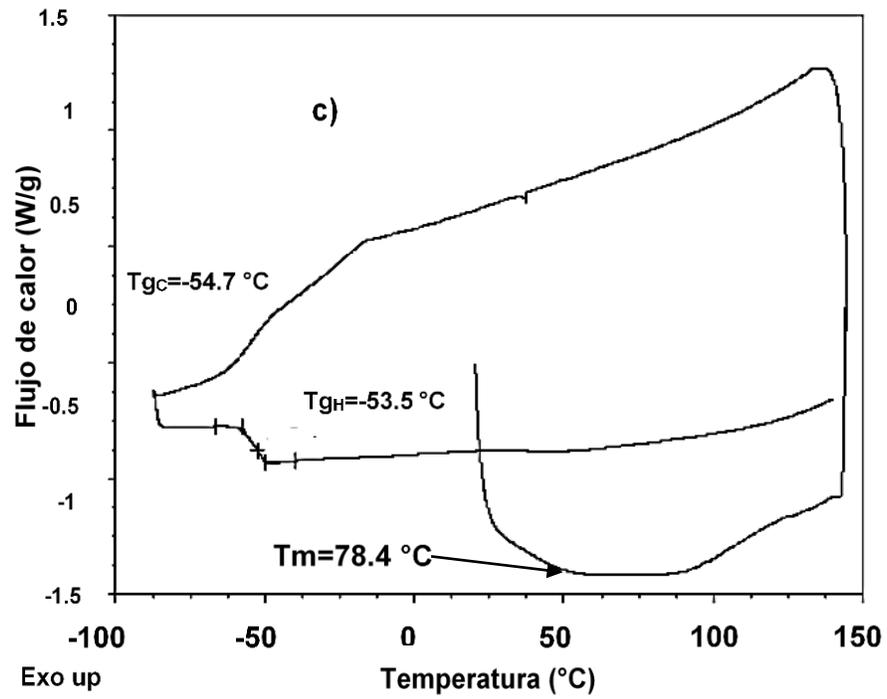


Figura 7.4. Continuación.....

### 7.2.1. Diagramas de estado

Los puntos experimentales de congelación ( $T_m$ ,  $T_m'$ ) y de temperaturas de transición vítrea ( $T_g$  y  $T_g'$ ) en función de la fracción másica del sólido son utilizados en la construcción de diagramas de estado de los 11 sistemas modelo, los cuales son presentados en la Figura 7.5. La disminución de la temperatura de transición vítrea debida al efecto plastificante del agua, así como la disminución del punto de congelación con el incremento de la concentración los sólidos son mostrados en estas figuras. La predicción de  $T_m$  y  $T_g$  con los modelos de Chen y Gordon-Taylor también son presentados en estas figuras. La Figura 7.5 muestra que en todos los casos, existe una buena concordancia entre los parámetros experimentales y predichos por los modelos. Por lo tanto, los parámetros correspondientes de ambos modelos son presentados en la Tabla 7.1. De acuerdo a la Tabla 7.1, se puede apreciar que la dispersión de los datos experimentales presentados por el modelo de Chen es descrita por un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) con valores entre 0.80 y 0.980, mientras que con el modelo de Gordon-Taylor los valores de  $R^2$  variaron entre 0.962 y 0.994.

Los valores de  $T_g$ s y  $k$  obtenidos con el modelo de Gordon-Taylor variaron entre 7 y 40.7°C y 3.08 a 4.09, respectivamente (Tabla 7.1). Cabe remarcar que el rango de valores de  $T_g$ s encontrado en este estudio, es ligeramente inferior al rango de 10.4-64.8°C reportado por Ruiz-Cabrera et al. (2016) para mezclas de azúcares del mismo tipo, pero sin la presencia de ácido cítrico y pectina. Entonces, es probable que el ácido cítrico y la pectina tengan un rol de efecto plastificante en la  $T_g$  de la mezcla, haciendo que los valores de  $T_g$ s tiendan a disminuir con la presencia de estos componentes. Es importante resaltar que los valores de  $T_g$ s más grandes (38.2 y 40.7°C) son encontrados para el experimento 6 y 9 (Tabla 6.1) y los valores más bajos (7 y 9.7°C) para los experimentos 1 y 10 (Tabla 6.1). Por otra parte, los valores predichos de  $k$ , se encuentran en el rango de valores reportados en la literatura para frutas como dátiles (3.2, Kasapis et al., 2000), uva (4.11, Fraba et al., 2009) y para mezclas de azúcares (4.72 a 2.84; Ruiz-Cabrera et al., 2015). Si se toma en cuenta el significado físico del parámetro  $k$ , la relación entre la temperatura de transición vítrea

y el contenido de sólidos, presenta un comportamiento cóncavo en todos los casos (Sablani et al., 2010).

De acuerdo con la Tabla 7.1, los parámetros estimados del modelo de Che (E y B), presentaron una variación de 0.0602 a 0.0967, y de 0.0248 a 0.2405, respectivamente. Con base al significado físico de E, descrito en la Sección 2.7.2, el peso molecular efectivo de los sólidos en estos sistemas se presenta en un rango de 299 a 186.14, valores que se encuentran cerca del doble de aquellos reportados para la manzana (75, Bai et al., 2001) y mora azul (78, Vázquez et al., 2013) y cercanos a los obtenidos para dátiles (140, Rahman, 2004; 200, Kasapis et al., 2000) y mango (259, Zhao et al., 2015).

En la Figura 7.5, se puede observar que en todos los experimentos, los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  variaron muy poco con el contenido de sólidos en las muestras. Por lo tanto, los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  medidos en todo el rango de agua congelable son promediados y representados como una línea horizontal en los respectivos diagramas de estado, como se muestra gráficamente en la Figura 7.5. Los valores promedios de  $T_g'$  y  $T_m'$  para cada uno de los experimentos son reportados también en la Tabla 7.1.  $T_g'$  varía de  $-59.3$  a  $-50.6^\circ\text{C}$  y  $T_m'$  de  $-41.8$  a  $-33^\circ\text{C}$ . Es encontrado de manera general que tanto  $T_g'$  como  $T_m'$  son ligeramente inferiores a los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  reportados por Ruiz-Cabrera et al. (2016). Sin embargo, puede considerarse que los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$  encontrados en este estudio se encuentran dentro del rango de valores reportados para algunas frutas como uva, mango, kiwi y dátiles (Fabra et al., 2009; Moraga et al., 2006; Zhao et al., 2015; Guizani et al., 2010).

En este estudio, los valores correspondientes de  $x_s'$  de cada uno de los sistemas estudiados son obtenidos a partir de la intersección de la curva  $T_m$  con el valor promedio de  $T_m'$ , tal y como se muestra gráficamente en la Figura 7.5 y cuyos valores son también reportados en la Tabla 7.1. Los valores de  $x_s'$  variaron en un rango de 0.715 a 0.805. Este rango de valores se encuentra entre la concentración habitual de alrededor de 0.80 g sólidos/g muestra, reportado para soluciones de azúcares y frutas (Roos y Karel, 1991; Ablett et al., 1992; Icoz y Kokini, 2008; Moraga et al., 2006; Fabra et al., 2009; Guizani et al., 2010; Zhao et al., 2015).

Es indicado en la literatura que la formación de hielo solamente es posible cuando la concentración de soluto en el sistema es menor a  $x_s'$ . Este parámetro sirve de referencia entonces para delimitar la zona de agua congelable y agua no congelable en los diagramas de estado. Por lo que a partir de la diferencia  $1-x_s'=x_w'$  puede conocerse entonces la cantidad de agua no congelable, el cual es determinado en este estudio, un valor de  $x_w'$  que se presenta en un rango de 0.285 a 0.195 kg agua/kg de muestra.

Como ha sido mencionado en secciones anteriores, un diagrama de estado se utiliza para predecir los diferentes estados físicos de un alimento y seleccionar las condiciones adecuadas de procesamiento y almacenamiento de productos con agua congelable y no congelable. De acuerdo con la Figura 7.5, cuando los alimentos son congelados en la región delimitada por la curva  $T_m$ , y el valor de  $T_m'$ , estos alcanzan un estado físico conformados por las fases de hielo y solución, en los cuales es muy probable se fomenten los fenómenos de re-cristalización del hielo con sus efectos adversos previamente comentados. Por otro lado, si los productos son almacenados en la región delimitada entre el valor de  $T_g'$  y la curva  $T_g$ , éstos alcanzan un estado físico conformado por las fases de hielo y vítreo, en donde los fenómenos difusivos y deteriorativos son en su mayoría bloqueados. Como temperatura de almacenamiento para productos congelados se recomienda entonces una temperatura ligeramente por debajo del valor de  $T_g'$ . Es importante indicar que en sistemas con composición químicas como los tratados en este estudio, el uso de la temperatura de congelación comercial, de  $-18\text{ }^\circ\text{C}$ , no es suficiente para cristalizar toda el agua congelable presente en los alimentos. Lo anterior ocurre debido a que a temperaturas inferiores a  $T_m$  y superiores a  $T_m'$ , existe agua congelada y agua en solución con soluto que requiere de una menor temperatura para cristalizar. En lo que respecta a los alimentos deshidratados o con humedad reducida, es importante conocer la relación entre  $T_g$  y la fracción másica sólida por arriba del valor de  $x_s'$ , es decir, en la región en la que los alimentos solamente contienen agua no congelable. Con ello, puede predecirse los cambios físicos de amorfo a cauchoso o viceversa que podrían sufrir alimentos

deshidratados o en polvos en casos de cambios repentinos de temperatura o de humedad relativa en el ambiente o dentro de los empaques de los alimentos.

**Tabla 7.1. Parámetros de los modelos matemáticos (Ecuaciones 7 y 1) y de la matriz con máxima crio-concentración de sistemas modelo.**

| Exp | Parámetros de la Ecuación 7 |        |                | Parámetros de la Ecuación 1 |      |                | Punto máxima crio-concentración |       |       |
|-----|-----------------------------|--------|----------------|-----------------------------|------|----------------|---------------------------------|-------|-------|
|     | E                           | B      | R <sup>2</sup> | k                           | Tgs  | R <sup>2</sup> | xs'                             | Tg'   | Tm'   |
| 1   | 0.0750                      | 0.1119 | 0.962          | 3.08                        | 7    | 0.964          | 0.792                           | -56.3 | -41.6 |
| 2   | 0.0716                      | 0.1825 | 0.869          | 4.06                        | 33.9 | 0.988          | 0.748                           | -58.1 | -39.5 |
| 3   | 0.0602                      | 0.1288 | 0.965          | 3.60                        | 34.7 | 0.989          | 0.777                           | -50.8 | -33.4 |
| 4   | 0.0806                      | 0.2198 | 0.966          | 3.26                        | 18.6 | 0.988          | 0.721                           | -56.5 | -40.7 |
| 5   | 0.0683                      | 0.1904 | 0.975          | 3.28                        | 17.4 | 0.974          | 0.742                           | -54.9 | -37.3 |
| 6   | 0.0717                      | 0.2224 | 0.980          | 3.67                        | 40.7 | 0.962          | 0.715                           | -59.3 | -35.2 |
| 7   | 0.0967                      | 0.0248 | 0.800          | 4.09                        | 30.4 | 0.970          | 0.805                           | -56.5 | -38.0 |
| 8   | 0.0619                      | 0.0872 | 0.872          | 3.63                        | 36.6 | 0.984          | 0.799                           | -50.6 | -33.0 |
| 9   | 0.0902                      | 0.0494 | 0.935          | 3.86                        | 38.2 | 0.983          | 0.793                           | -55.8 | -36.7 |
| 10  | 0.0782                      | 0.2146 | 0.969          | 3.12                        | 9.7  | 0.966          | 0.729                           | -54.0 | -41.8 |
| 11  | 0.0629                      | 0.2405 | 0.917          | 3.91                        | 29.0 | 0.994          | 0.725                           | -57.8 | -38.4 |

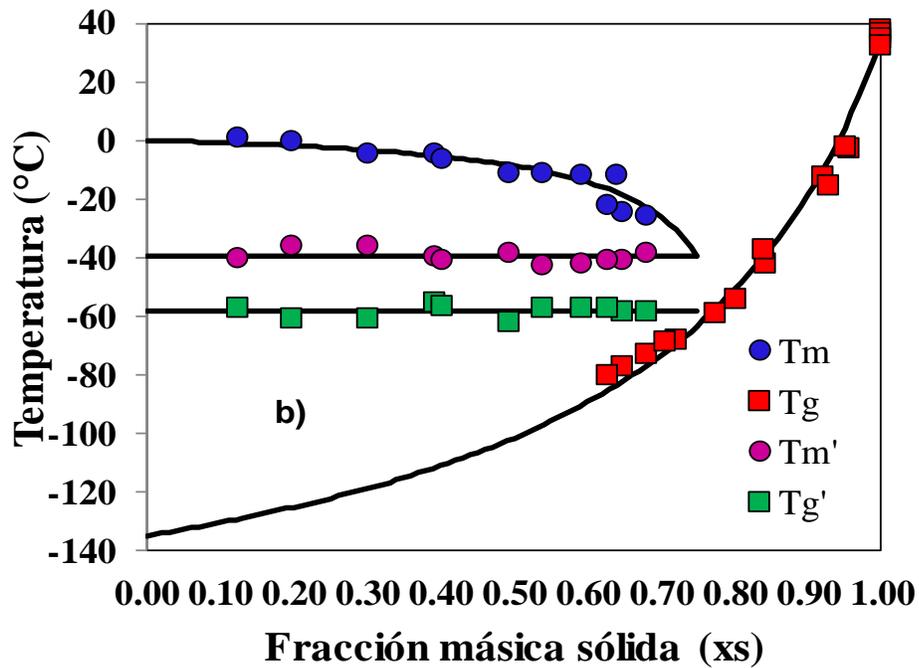
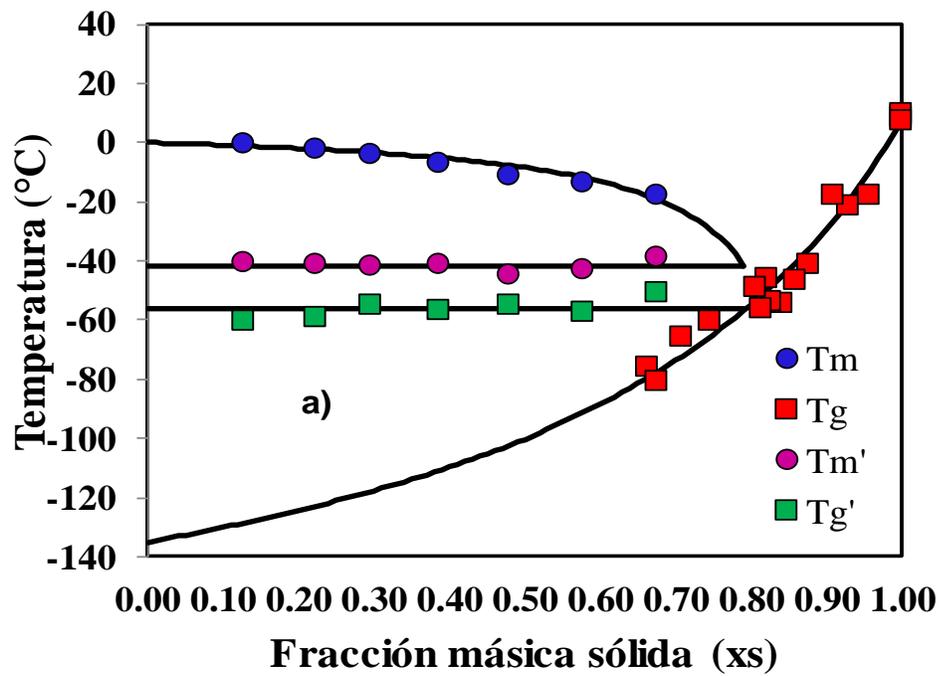


Figura 7.5. Diagramas de estado de sistemas modelo de los 11 experimentos. (a) 1, (b) 2, (c) 3, (d) 4, (e) 5, (f) 6, (g) 7, (h) 8, (i) 9, (j) 10 y (k) 11.

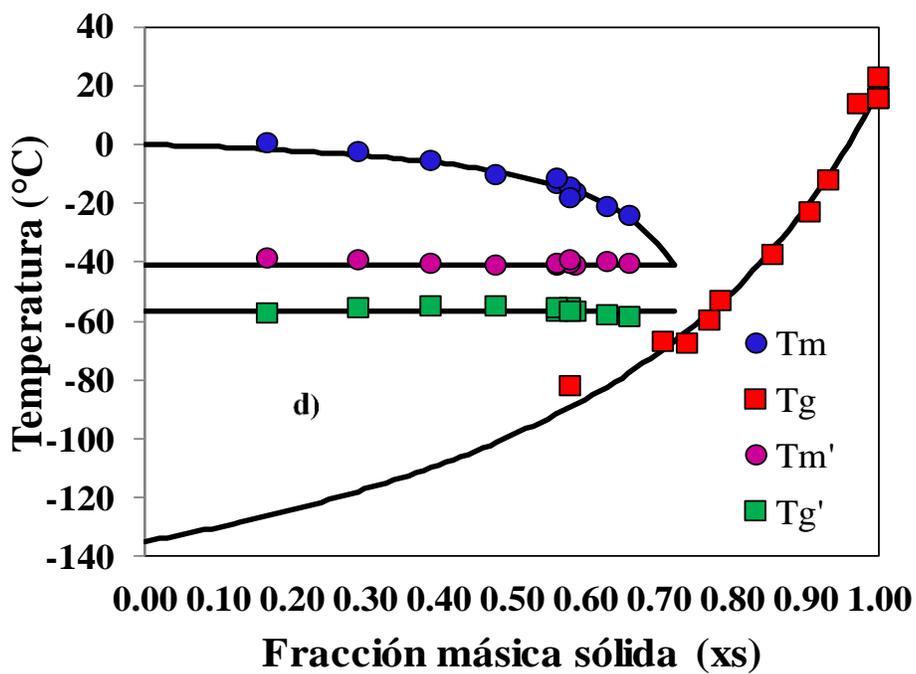
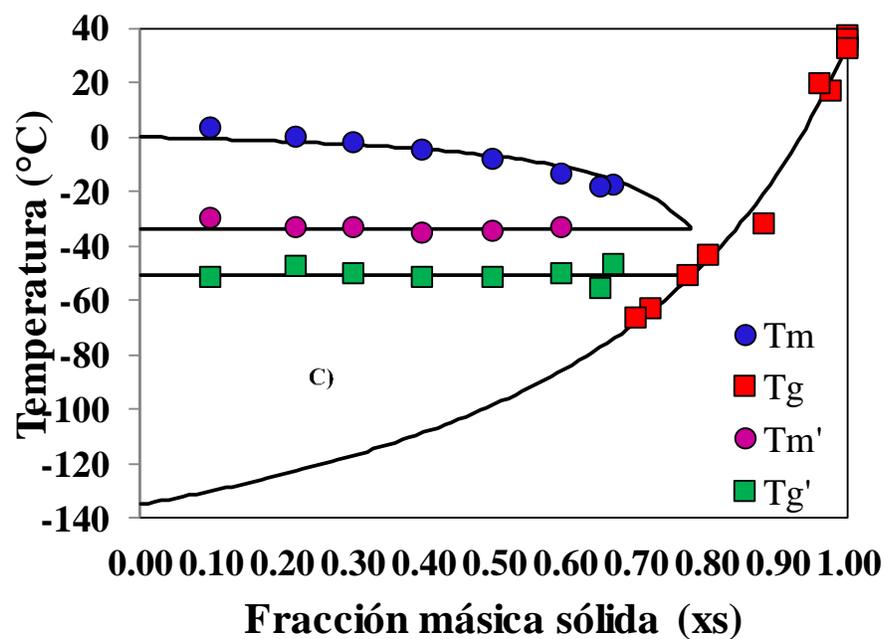


Figura 7.5. Continuación.....

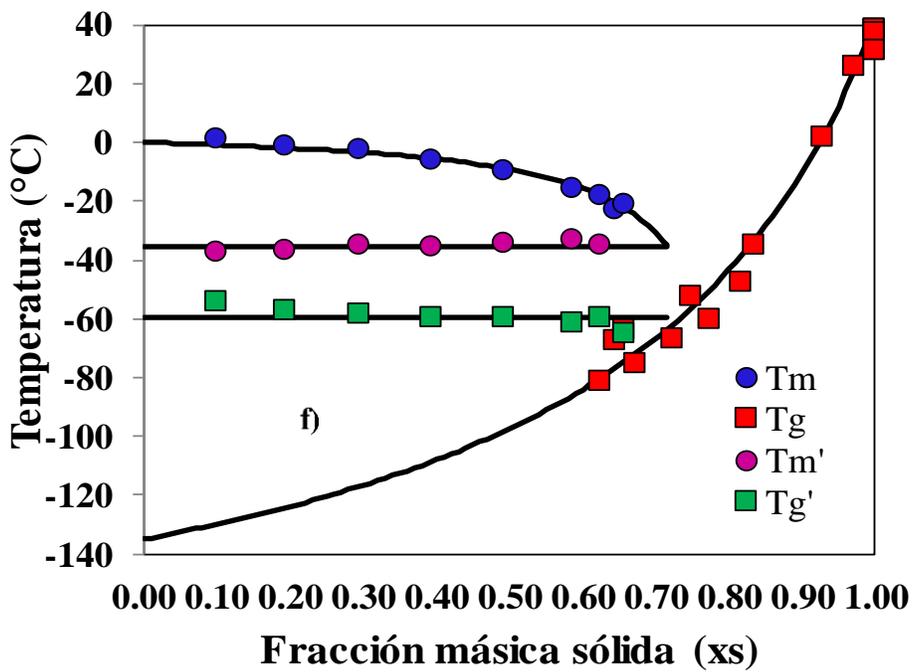
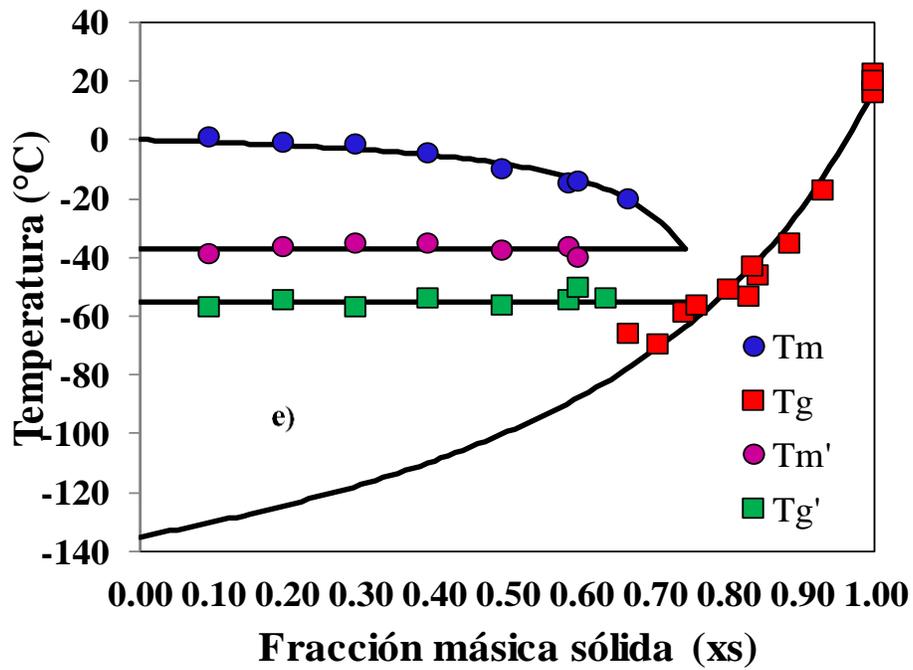


Figura 7.5. Continuación.....

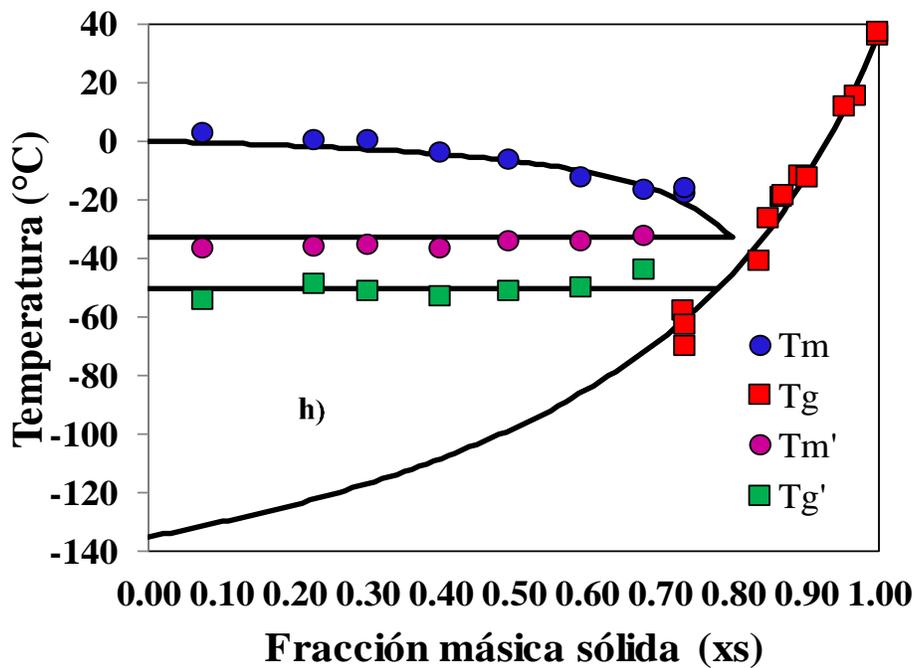
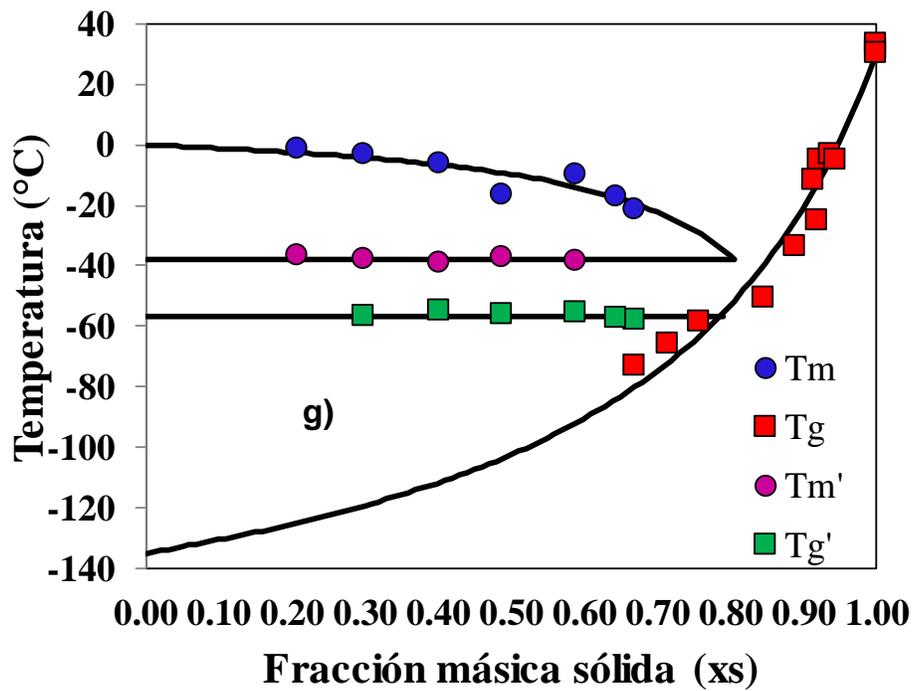


Figura 7.5. Continuación.....

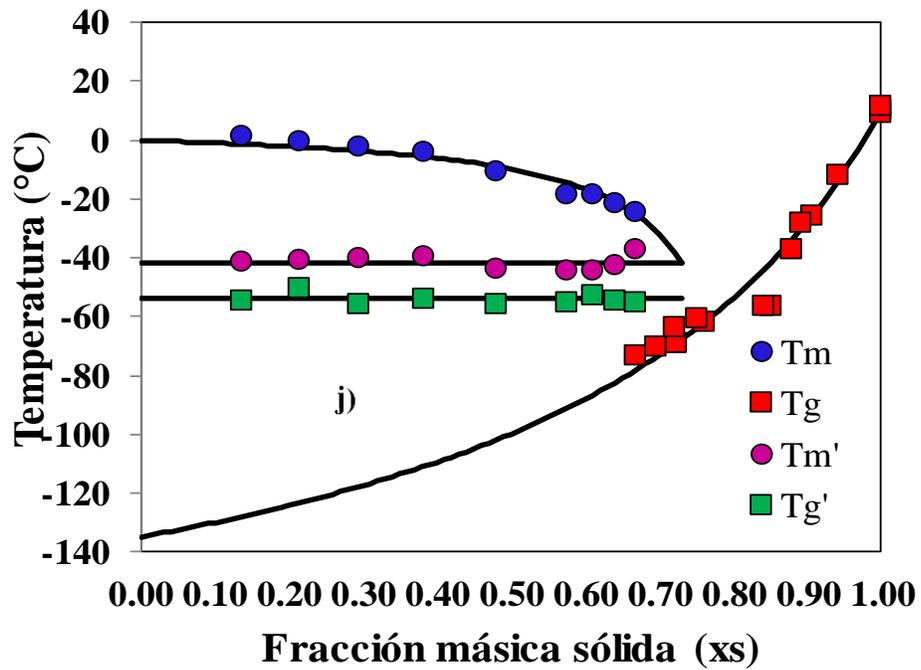
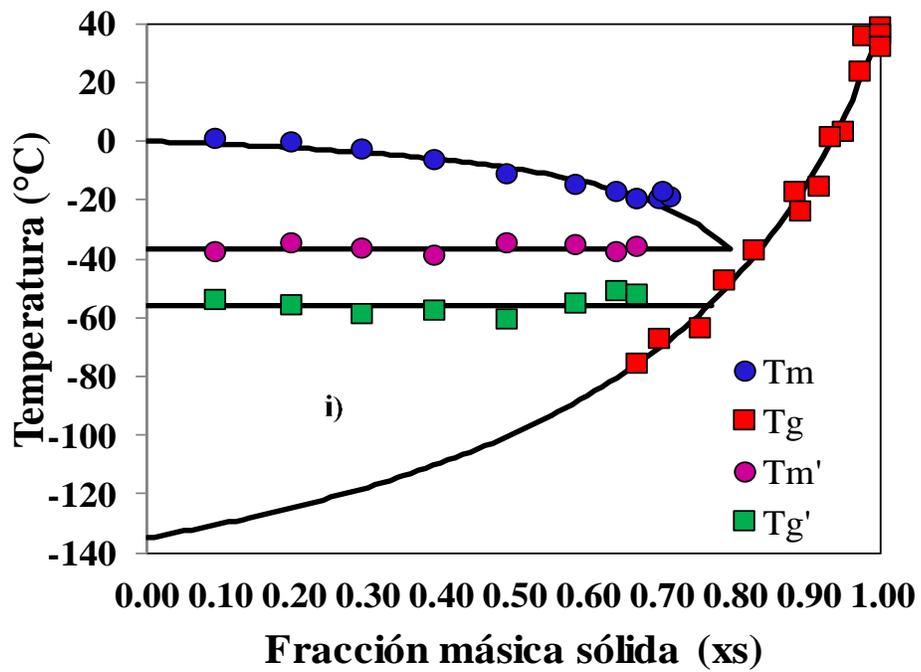


Figura 7.5. Continuación.....

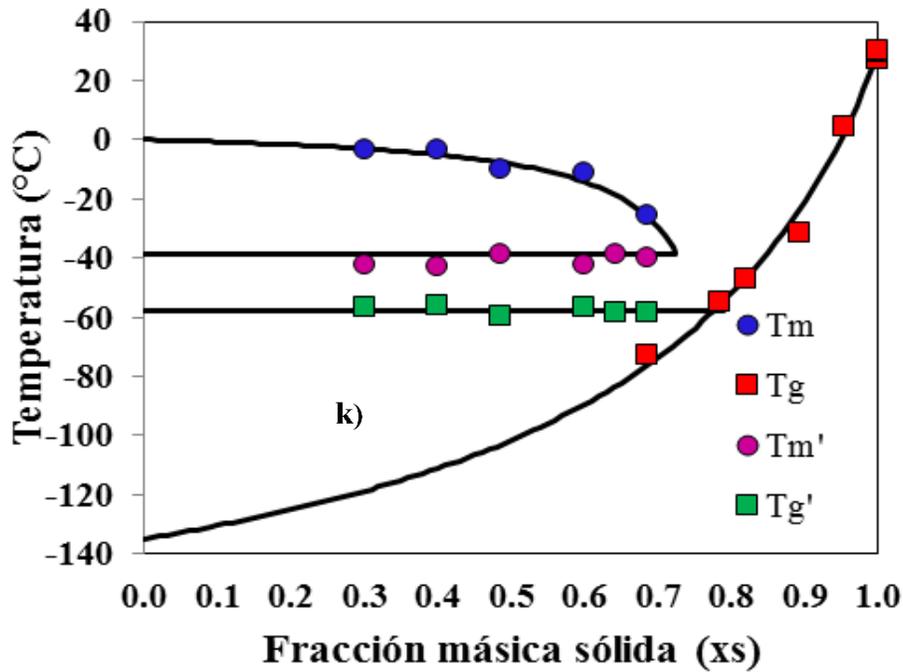


Figura 7.5. Continuación.....

### 7.2.2. Análisis de varianza en sistemas modelo

El efecto de la composición química ( $X_F$ ,  $X_G$ ,  $X_S$ ,  $X_{AC}$  y  $X_P$ ) sobre los parámetros  $E$ ,  $B$ ,  $T_g$ ,  $k$ ,  $x_s'$ ,  $T_g'$  y  $T_m'$  es evaluado mediante un análisis estadístico (ANOVA) utilizando el modelo de Scheffe (Ecuación 8) considerando un nivel de confianza de 95% ( $p < 0.05$ ). Los coeficientes de regresión, así como el análisis de varianza (ANOVA), se presentan en la Tabla 7.2. Los valores de los coeficientes de determinación ( $R^2$ ), coeficientes de variación (C.V.) y significancia del modelo ( $P > F$ ) obtenidos durante la regresión, también están dados en esta tabla.

De acuerdo con los valores de probabilidad ( $p > t$ ) obtenidos en el ANOVA (Tabla 7.2), es observado que a excepción de la variable de respuesta  $E$ , todas las variables de respuesta son afectadas linealmente en primer lugar por la fracción másica de los componentes de la mezcla de azúcares. Algunos efectos interactivos cuadráticos entre los azúcares son encontrados solamente para  $k$ ,  $T_g$ , y  $T_g'$ . Por ejemplo, en el caso particular de  $k$  es encontrado un efecto interactivo entre la fructosa y glucosa ( $X_F X_G$ ) así como un efecto de interacción triple ( $X_F X_G X_S$ ). Un efecto interactivo entre la

fructosa y sacarosa ( $X_F X_s$ ) es encontrado para Tg y entre glucosa y sacarosa ( $X_G X_s$ ) para Tg'. Las otras interacciones entre los azúcares no son significantes en las variables de respuesta.

La Tabla 7.2 muestra que el modelo de Scheffe (Ecuación 8) presenta una dispersión de datos que es descrita por los valores de  $R^2$ , los cuales se presentan un rango de 0.240 a 0.978. En donde E y B son los que presentan los valores más bajos, a diferencia de k, Tgs y Tm, los cuales cuentan con valores superiores a 0.965. Superficies de respuesta tridimensionales para los valores predichos y experimentales de cada una de las variables de respuestas evaluadas (E, B, k, Tgs, xs', Tg', Tm'), pueden ser observadas en las Figuras 7.6, 7.7, y 7.8. La forma de cada una de las superficies de respuesta permite fácilmente la identificación de las regiones en donde pueden esperarse los valores máximos y mínimos de cada una de las respuestas.

Tabla 7.2. Coeficientes de regresión y análisis de varianza ( $\alpha = 0.05$ ) del modelo de Scheffe (Ecuación 8) para evaluar la variación de las variables respuesta con la composición química de los sistemas modelo

| Efecto                   | E            |               | B            |               | k             |               | Tgs                |               | xs'          |               | Tg'            |               | Tm'                |               |
|--------------------------|--------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------------|---------------|--------------|---------------|----------------|---------------|--------------------|---------------|
|                          | Coef.        | p > t         | Coef.        | p > t         | Coef.         | p > t         | Coef.              | p > t         | Coef.        | p > t         | Coef.          | p > t         | Coef.              | p > t         |
| $X_F (\alpha_1)$         | <b>0.081</b> | <b>0.0001</b> | <b>0.172</b> | <b>0.0377</b> | <b>3.264</b>  | <b>0.0000</b> | <b>8.039</b>       | <b>0.0022</b> | <b>0.795</b> | <b>0.0000</b> | <b>-58.472</b> | <b>0.0000</b> | <b>-43.942</b>     | <b>0.0000</b> |
| $X_G (\alpha_2)$         | <b>0.071</b> | <b>0.0002</b> | <b>0.223</b> | <b>0.0166</b> | <b>4.193</b>  | <b>0.0000</b> | <b>33.022</b>      | <b>0.0000</b> | <b>0.774</b> | <b>0.0000</b> | <b>-60.967</b> | <b>0.0000</b> | <b>-41.056</b>     | <b>0.0000</b> |
| $X_S (\alpha_3)$         | <b>0.064</b> | <b>0.0003</b> | 0.114        | 0.1131        | <b>3.807</b>  | <b>0.0000</b> | <b>36.673</b>      | <b>0.0000</b> | <b>0.827</b> | <b>0.0000</b> | <b>-53.817</b> | <b>0.0000</b> | <b>-34.860</b>     | <b>0.0000</b> |
| $X_F X_G (\alpha_4)$     | 0.039        | 0.3482        | 0.144        | 0.7206        | <b>-1.251</b> | <b>0.0462</b> | -                  | -             | -            | -             | -              | -             | -                  | -             |
| $X_F X_S (\alpha_5)$     | -0.002       | 0.9570        | 0.243        | 0.5515        | -0.349        | 0.4705        | <b>30.778</b>      | <b>0.0146</b> | -            | -             | -              | -             | -                  | -             |
| $X_G X_S (\alpha_6)$     | 0.074        | 0.0573        | -0.106       | 0.7341        | -0.154        | 0.6732        | -                  | -             | -            | -             | <b>-13.583</b> | <b>0.0264</b> | -                  | -             |
| $X_F X_G X_S (\alpha_7)$ | 0.545        | 0.1273        | -5.175       | 0.1514        | <b>22.027</b> | <b>0.0030</b> | -                  | -             | -            | -             | -              | -             | -                  | -             |
| <b>Modelo</b>            |              |               |              |               |               |               |                    |               |              |               |                |               |                    |               |
| P > F                    | 0.123        |               | 0.527        |               | <b>0.003</b>  |               | <b>&lt; 0.0001</b> |               | 0.335        |               | <b>0.003</b>   |               | <b>&lt; 0.0001</b> |               |
| R <sup>2</sup>           | 0.840        |               | 0.599        |               | 0.977         |               | 0.966              |               | 0.240        |               | 0.845          |               | 0.978              |               |
| R <sup>2</sup> ajustada  | 0.599        |               | -0.0036      |               | 0.9415        |               | 0.9520             |               | 0.0494       |               | 0.7784         |               | 0.9720             |               |
| C.V. (%)                 | 9.87         |               | 49.65        |               | 2.46          |               | 9.59               |               | 4.48         |               | 2.36           |               | 1.35               |               |

p > t = Probabilidad t-student

p > F = Probabilidad Fisher

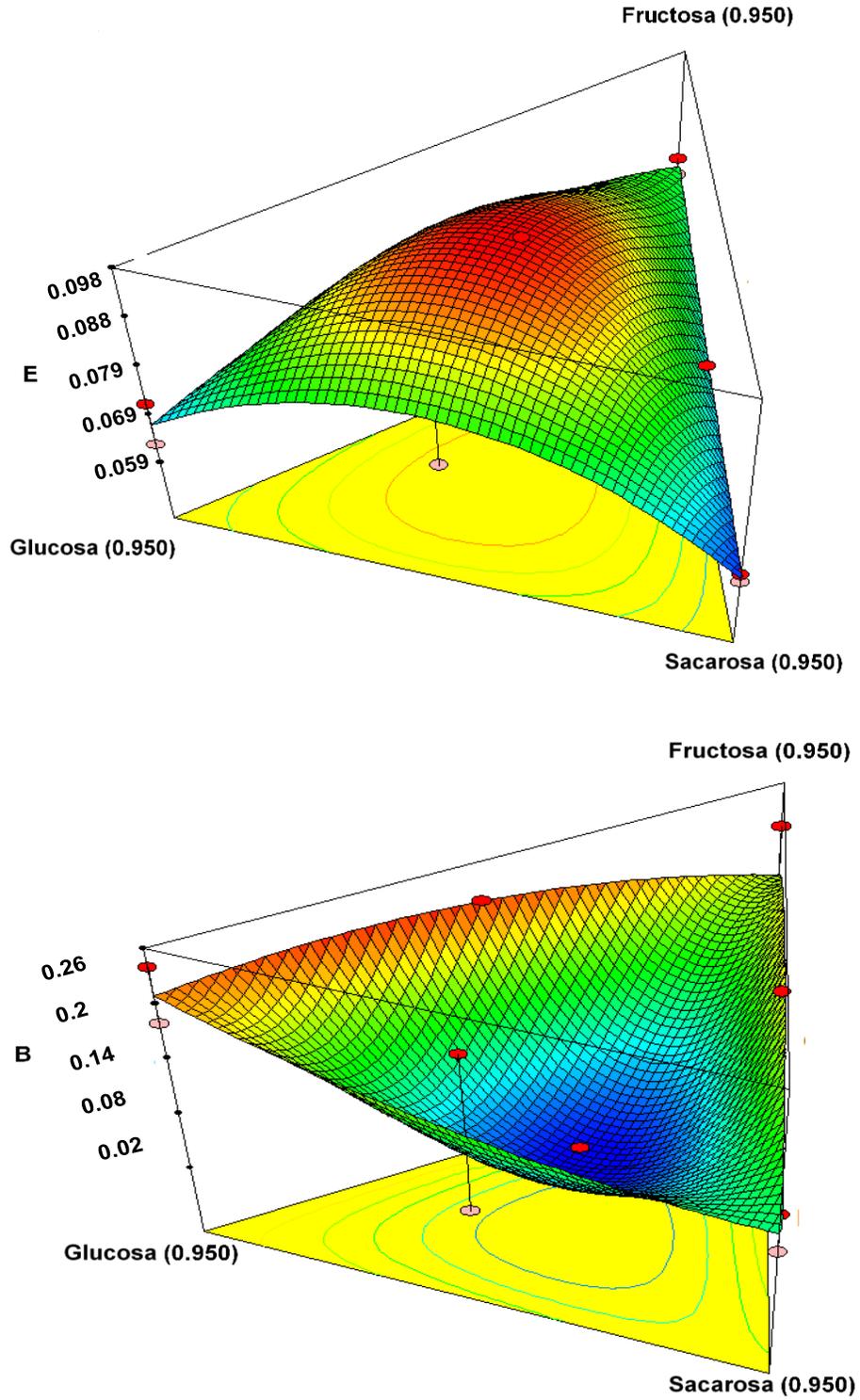


Figura 7.6. Variación de los parámetros E y B (Ecuación 7) en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.

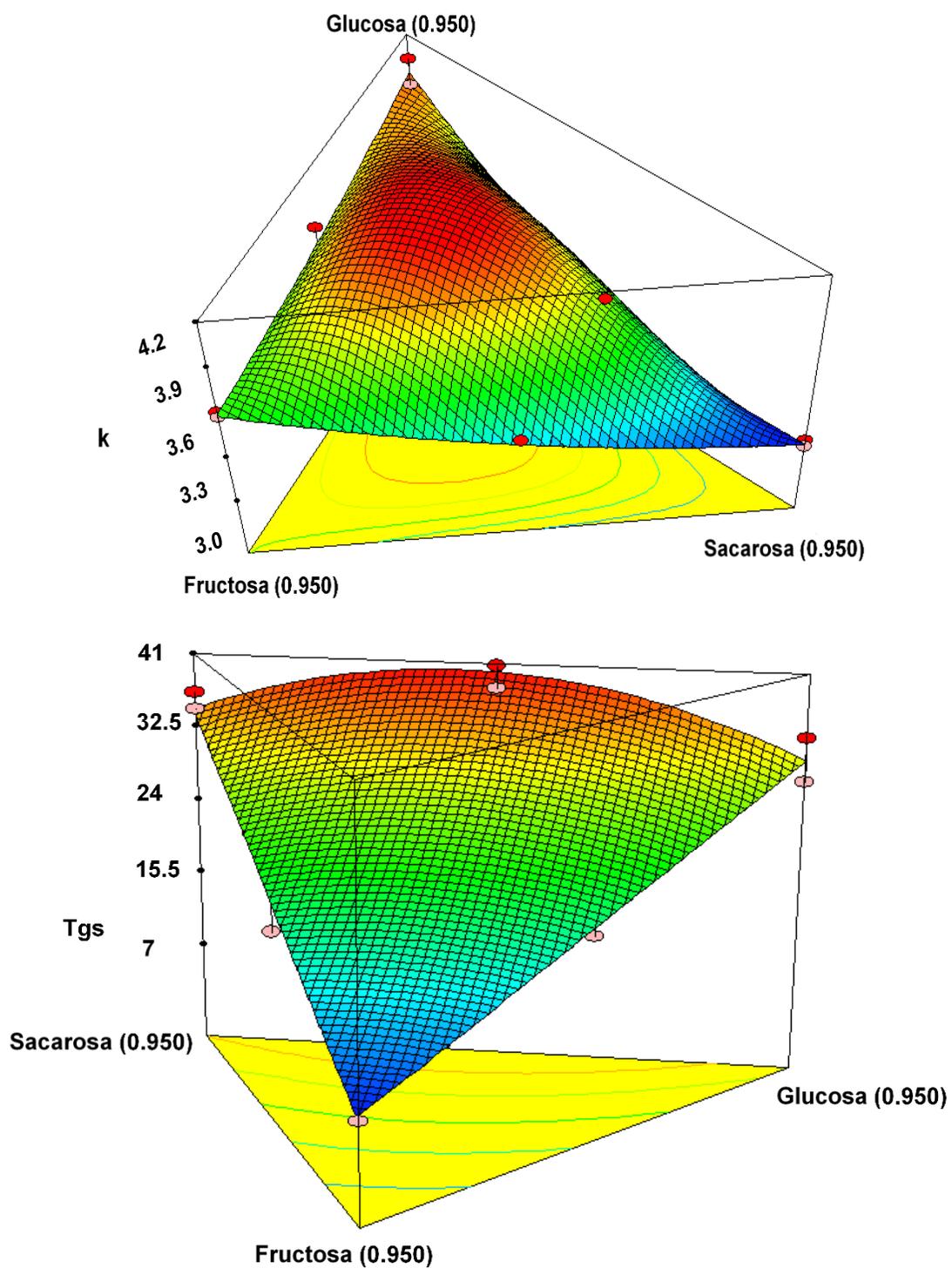


Figura 7.7. Variación de los parámetros  $k$  y  $T_{gs}$  (Ecuación 1) en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.

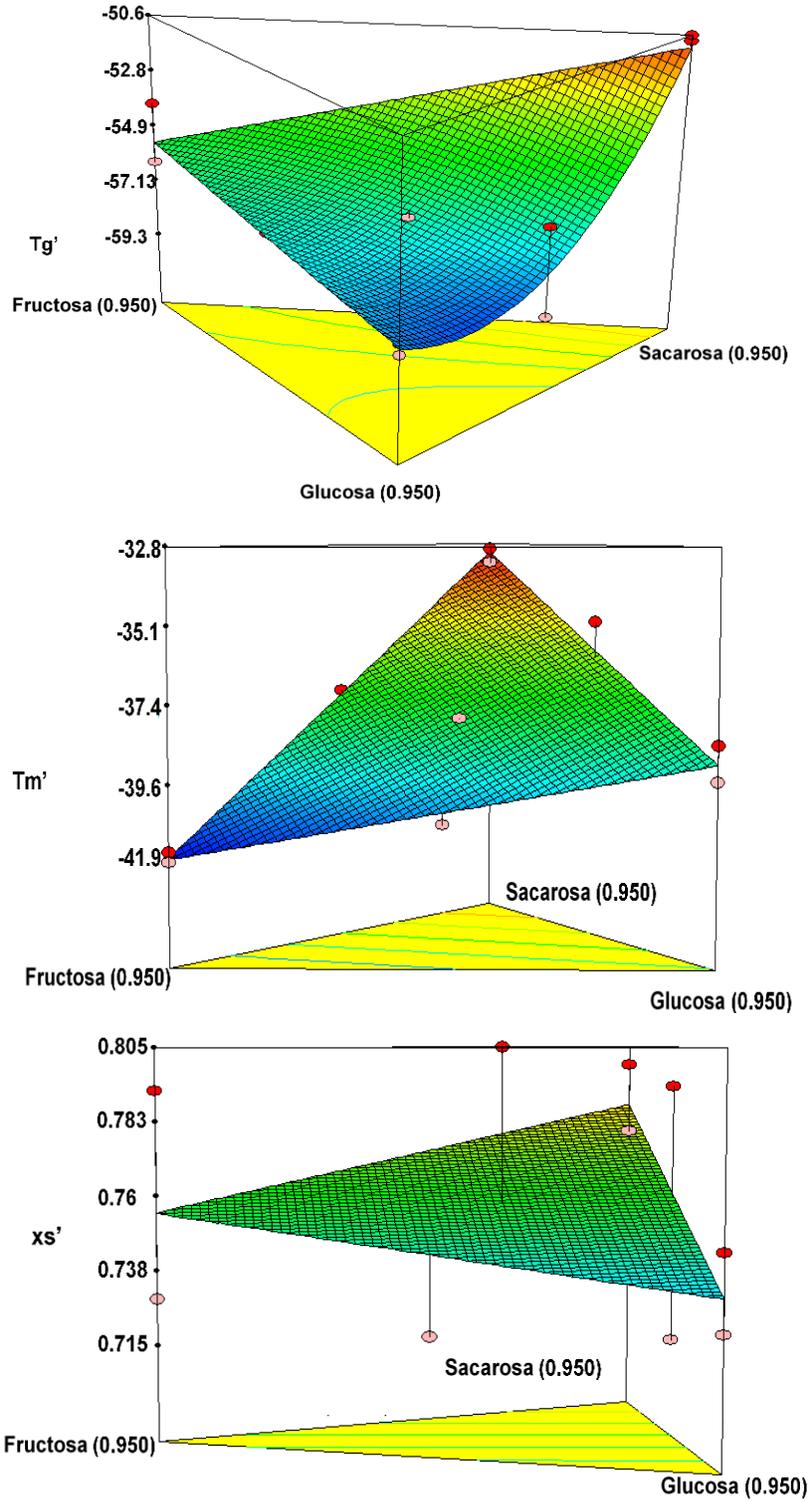


Figura 7.8. Variación de los parámetros  $Tg'$ ,  $Tm'$  y  $xs'$  en función de las fracciones másicas de los azúcares en los sistemas y efecto adicionado del ácido cítrico y pectina.

### **7.3. Jugos naturales de fruta**

#### **7.3.1. Caracterización química de los jugos naturales**

Con el fin de conocer la composición de jugos naturales y poder compararlos con los sistemas modelo (Tabla 6.1), es llevado a cabo una caracterización química de los cinco jugos naturales utilizados en este estudio. Los resultados obtenidos son presentados en las Tablas 7.3 y 7.4, en donde se muestra la concentración y tipo de azúcares determinados por análisis HPLC, el porcentaje de pectina y ácido cítrico obtenidos por los métodos de precipitación de pectina como pectato cálcico y acidez titulable, respectivamente (AOAC, 1996). En la Tabla 7.3 los resultados están expresados en base húmeda y en la Tabla 7.4 en fracción másica. Cabe indicar que la composición química en fracción másica sólida, es requerida y utilizada para el análisis estadístico t-Student para medias de dos muestras emparejadas entre los resultados obtenidos entre jugos naturales y sistemas modelos como es discutido posteriormente.

El jugo de fruta que tuvo el mayor porcentaje de pectina, es el mango, con 2.68% (b.h.), seguido por fresa, la cual tuvo un 1.72% (b.h.) (Tabla 7.3). Los valores anteriores expresados en fracción másica sólida en base seca, representan un 0.140 para mango y 0.215 para fresa (Tabla 7.4). Los demás jugos, presentaron una fracción másica sólida en base seca de pectina de 0.038, 0.017 y 0 para tuna, piña y naranja respectivamente (Tabla 7.4). El porcentaje (b.h.) de ácido cítrico en las frutas varía desde 0.028% a 0.820%, siendo los jugos de fresa y piña los más ácidos y el jugo de tuna el menos ácido. Las frutas que presentan porcentajes de pectina y ácido cítrico mayores a la fracción másica sólida establecida en el diseño experimental, 0.025, hace que el modelo no prediga adecuadamente los parámetros del diagrama de estado.

Por otra parte, tal y como se esperaba, la concentración de azúcares varía de un jugo de fruta natural a otro y es diferente a las fracciones que se estudiaron aquí. En la Figura 7.9, se presentan los cromatogramas HPLC obtenidos para cada uno de los jugos considerados en este estudio. Como se muestra en la Figura 7.9, la sacarosa, glucosa y fructosa son identificados con tiempos de elución de 12.5, 15 y 19 min, respectivamente. Así también, los jugos de naranja, piña y fresa presentaron un pico adicional (Figura 7.9 c-d) con un tiempo de elución del orden de 11 min, el cual es

identificado como galactosa de acuerdo al tiempo de retención de los azúcares utilizados como referencias (Kit de carbohidratos CAR-11 de Sigma-Aldrich). Los resultados revelaron que los azúcares constituyeron entre el 57.1% a 91.7%, de los sólidos totales presentes en los jugos, confirmando que además del agua, la fructosa, glucosa y sacarosa son los componentes principales en las frutas. Sin embargo, el diseño experimental establece una suma de azúcares de 95%, y la suma de fracción sólida de fructosa, glucosa y sacarosa es de 91.7, 82.6, 81.9, 57.1 y 68.4% para tuna, naranja, mango, fresa y piña respectivamente. Los valores anteriores son muy bajos comparados con los propuestos por el diseño experimental, lo cual causa que el modelo no prediga adecuadamente los parámetros del diagrama de estado.

**Tabla 7.3. Composición química de jugos naturales expresados en porcentaje másico en base húmeda.**

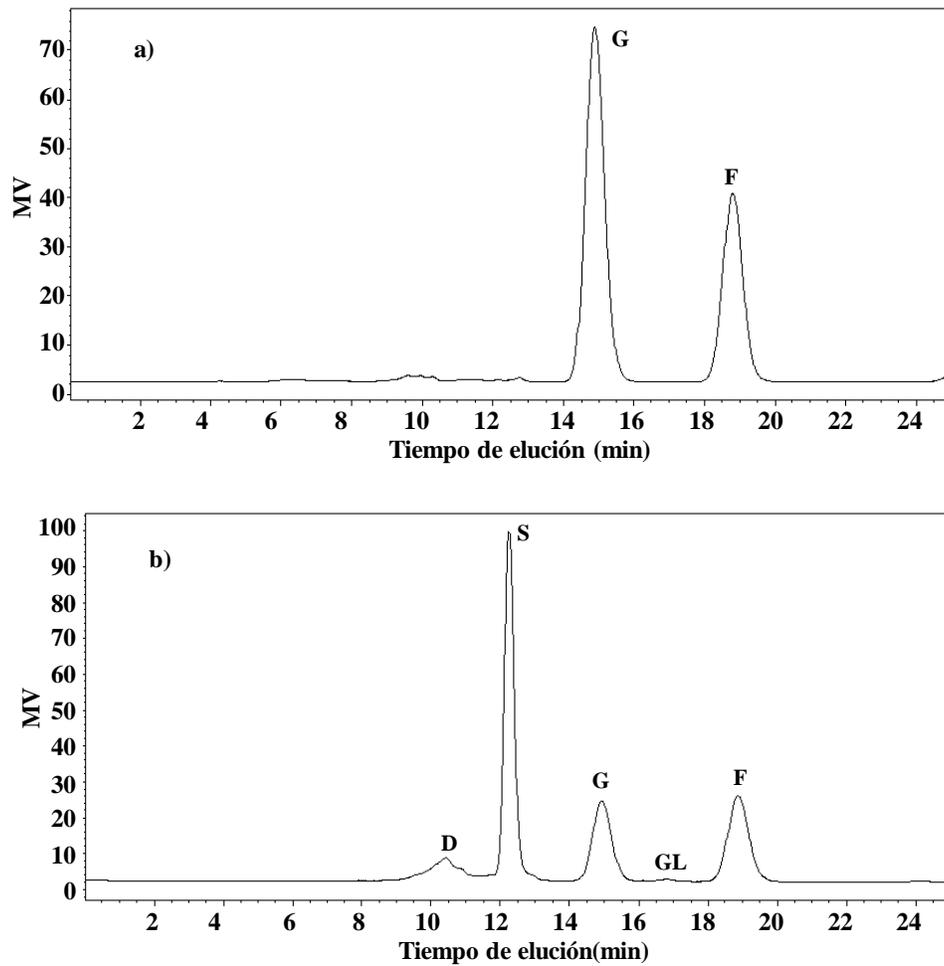
| Muestra | Sólidos solubles totales (°Brix) | Fructosa (%) | Glucosa (%) | Sacarosa (%) | Galactosa (%) | Ácido cítrico (%) | Pectina total (%) |
|---------|----------------------------------|--------------|-------------|--------------|---------------|-------------------|-------------------|
| Tuna    | 14.6±0.116                       | 4.78±0.013   | 8.43±0.022  | N.D.         | N.D.          | 0.028±0.009       | 0.55±0.16         |
| Naranja | 13.1±0.208                       | 3.05±0.003   | 2.47±0.001  | 5.46±0.026   | 0.02±0.004    | 0.357±0.009       | N.D.              |
| Mango   | 19.2±0.058                       | 4.18±0.002   | 1.82±0.005  | 10.37±0.003  | N.D.          | 0.233±0.005       | 2.68±0.17         |
| Fresa   | 8.0±0.1                          | 2.28±0.008   | 2.06±0.004  | 0.40±0.008   | 0.02±0.002    | 0.820±0.14        | 1.72±0.42         |
| Piña    | 10.8±0.1                         | 3.42±0.008   | 2.85±0.003  | 1.11±0.002   | 0.005±0.0005  | 0.533±0.019       | 0.18±0.018        |

N.D. No detectado

**Tabla 7.4. Composición química de los jugos naturales expresados en fracción másica sólida en base seca.**

| Muestra | Sólidos solubles totales °Brix | Fructosa | Glucosa | Sacarosa | Galactosa | Ácido cítrico | Pectina | Suma total |
|---------|--------------------------------|----------|---------|----------|-----------|---------------|---------|------------|
| Tuna    | 14.6                           | 0.327    | 0.577   | N.D.     | N.D.      | 0.002         | 0.038   | 0.94       |
| Naranja | 13.1                           | 0.233    | 0.189   | 0.417    | 0.0020    | 0.027         | N.D.    | 0.87       |
| Mango   | 19.2                           | 0.218    | 0.095   | 0.540    | N.D.      | 0.012         | 0.140   | 1.00       |
| Fresa   | 8.0                            | 0.285    | 0.258   | 0.050    | 0.0030    | 0.103         | 0.215   | 0.94       |
| Piña    | 10.8                           | 0.317    | 0.264   | 0.103    | 0.0005    | 0.049         | 0.017   | 0.75       |

N.D. No detectado



**Figura 7.9. Cromatogramas HPLC mostrando la separación de los diferentes tipos de azúcares presentes en los jugos de frutas. (a) tuna, (b) naranja, (c) mango, (d) piña, (e) fresa. S: Sacarosa, G: Glucosa, F: Fructosa, GL: Galactosa, U: Desconocido.**

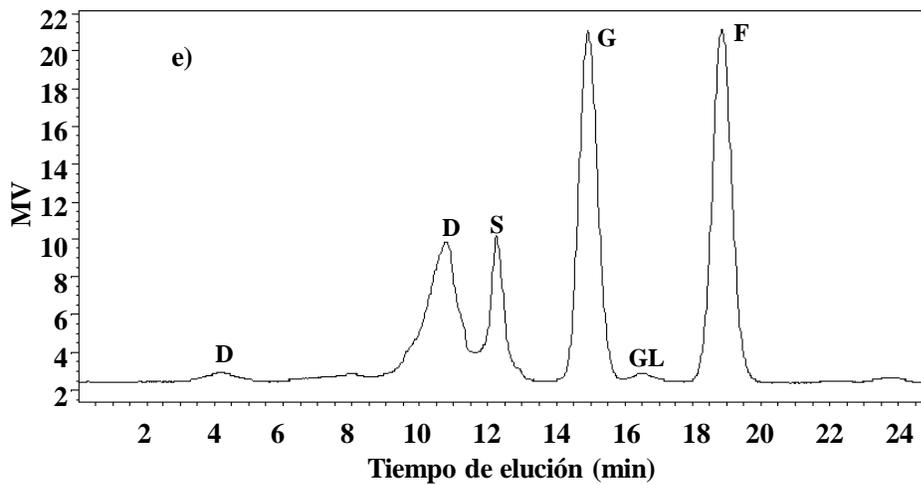
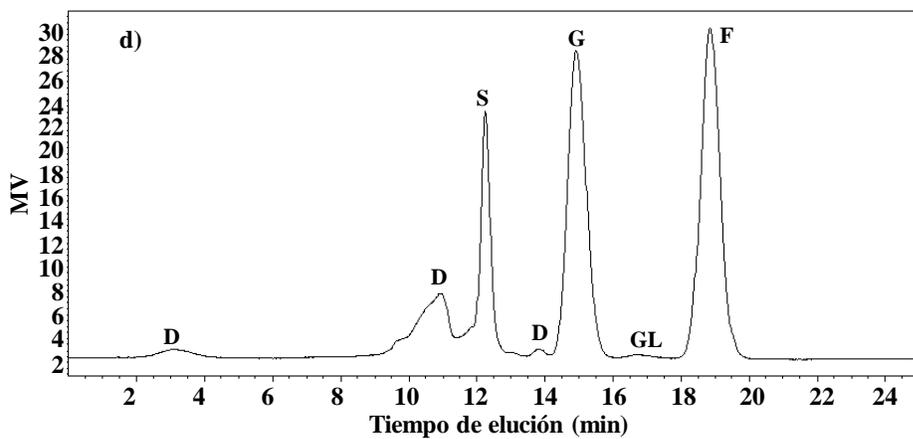
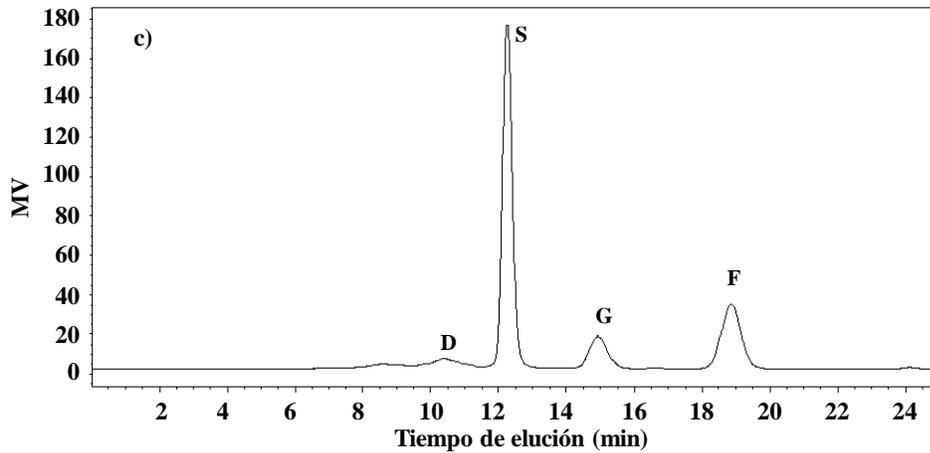


Figura 7.9. Continuación.....

### 7.3.2. Transiciones térmicas en jugos de fruta con agua congelable

Al igual que con los sistemas modelo, se realizan estudios calorimétricos de los jugos liofilizados preparados a diferentes contenidos de humedad. A modo de ejemplo, en la Figura 7.10 se muestra el termograma DSC obtenido para el polvo de jugo de tuna preparado con 86.6% (b.h.) y mostrando como  $T_g'$ ,  $T_m'$ ,  $T_f$  y  $T_m$ , son determinados. Tal y como sucede con los sistemas modelo, también es observado el pico exotérmico correspondiente a la cristalización y el pico endotérmico de la fusión del hielo, además de los eventos en donde son determinados  $T_m'$  y  $T_g'$ . También es observado una gran diferencia entre el punto de cristalización ( $T_f = -16.77^\circ\text{C}$ ) y el punto de fusión ( $T_m = -0.17^\circ\text{C}$ ). En muestras con alto contenido de humedad, ocurre un evento relacionado con el inicio de la cristalización. En donde se produce un aumento de la temperatura provocado por la eliminación del calor latente del sistema a medida que se cristaliza el agua congelable, este fenómeno se le denomina subenfriamiento y es observado en la Figura 7.10. En todos los jugos y sistemas modelo se presenta este fenómeno. Sin embargo, la temperatura de subenfriamiento es más grande en el jugo de tuna, posiblemente causado por la diferencia en la composición química del sistema.

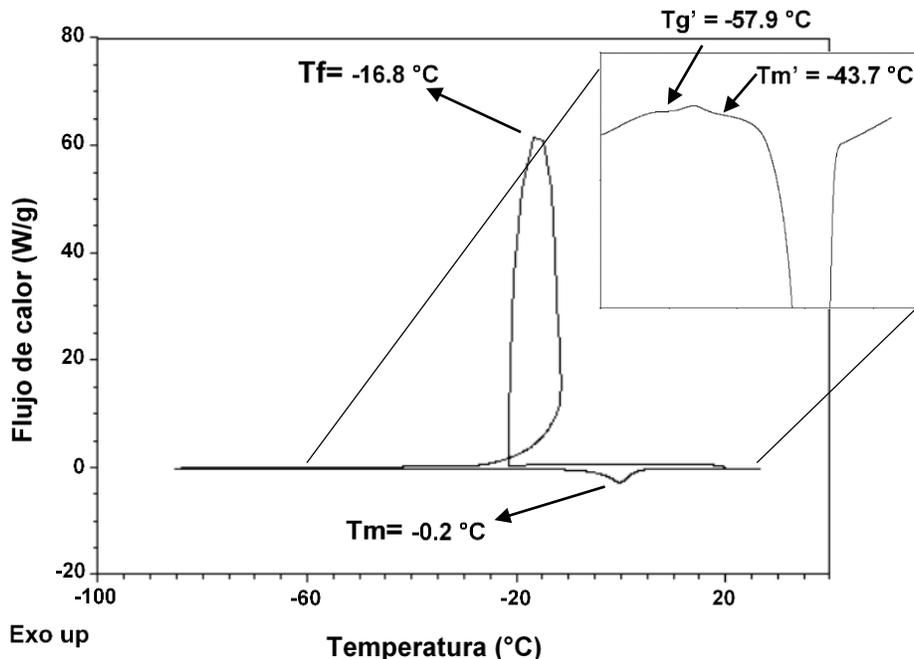


Figura 7.10. Termogramas DSC mostrando como  $T_f$ ,  $T_m$ ,  $T_g'$  y  $T_m'$  son caracterizados en jugo de tuna preparada a 86.6% de humedad (b.h.).

En la Figura 7.11, se muestran 3 termogramas de polvos de jugo de mango preparados a 72.2%, 61.1%, 41.7% de humedad (b.h.), con la finalidad de mostrar el efecto de la composición química y del agua en las transiciones de fase y de estado en los sistemas reales. Conforme el contenido de humedad de las muestras disminuyó desde 72.2 a 41.7% (b.h.), el punto de congelación ( $T_m$ ) también disminuyó desde -2.60 hasta -15.10 °C, lo cual es consistente con lo observado en los sistemas modelos, debido al efecto de la disminución del punto de congelación por los solutos.

La Figura 7.11c y 7.11d, presentan los resultados de la misma muestra preparada con un contenido de humedad de 41.7%, en el cual el proceso de annealing tuvo que implementarse. La Figura 7.11 (c), presenta el escaneo realizado hasta un tiempo de 30 min de análisis mostrando claramente el pico de desvitrificación ( $T=71^\circ\text{C}$ ) observado en la mayoría de los sistemas modelo y reales preparados en el rango de humedad intermedia. Este pico de desvitrificación significa que durante el primer enfriamiento hasta  $-90^\circ\text{C}$ , la cristalización del hielo es incompleta y cuando la matriz alcanza su valor correspondiente de  $T_m'$ , tiende a finalizar la cristalización. Por lo cual es necesario mantenerlo a esta temperatura durante un tiempo establecido, en este caso son probados un tiempo de 30 min (Figura 7.11c) y 90 min (Figura 7.11d). La Figura 7.11d muestra que un tiempo de annealing de 90 min es suficiente porque durante el recalentamiento desde  $-90^\circ\text{C}$  a  $40^\circ\text{C}$ , no es percibido el fenómeno de desvitrificación y una adecuada determinación de  $T_m'$  y  $T_g'$  es alcanzada en los sistemas reales.

En lo que concierne a los valores de  $T_g'$  y  $T_m'$ , puede observarse en la Figura 7.11 que independientemente del contenido de humedad de las muestras, éstos tienden también a ser constantes. En este caso en particular, un valor promedio de  $T_g'=-49.3^\circ\text{C}$  y un valor promedio de  $T_m'=-37.6^\circ\text{C}$ , es encontrado cuando el contenido de humedad de las muestras varía desde 72.2 a 41.7% (b.h) en el polvo liofilizado de mango. Comportamientos similares de  $T_g'$  y  $T_m'$  también son observados en muestras de jugo de mango por Zhao et al., (2015) y dátil por Rahman (2004). Comportamientos similares son obtenidos cuando el jugo de naranja, fresa, piña y tuna son analizados.

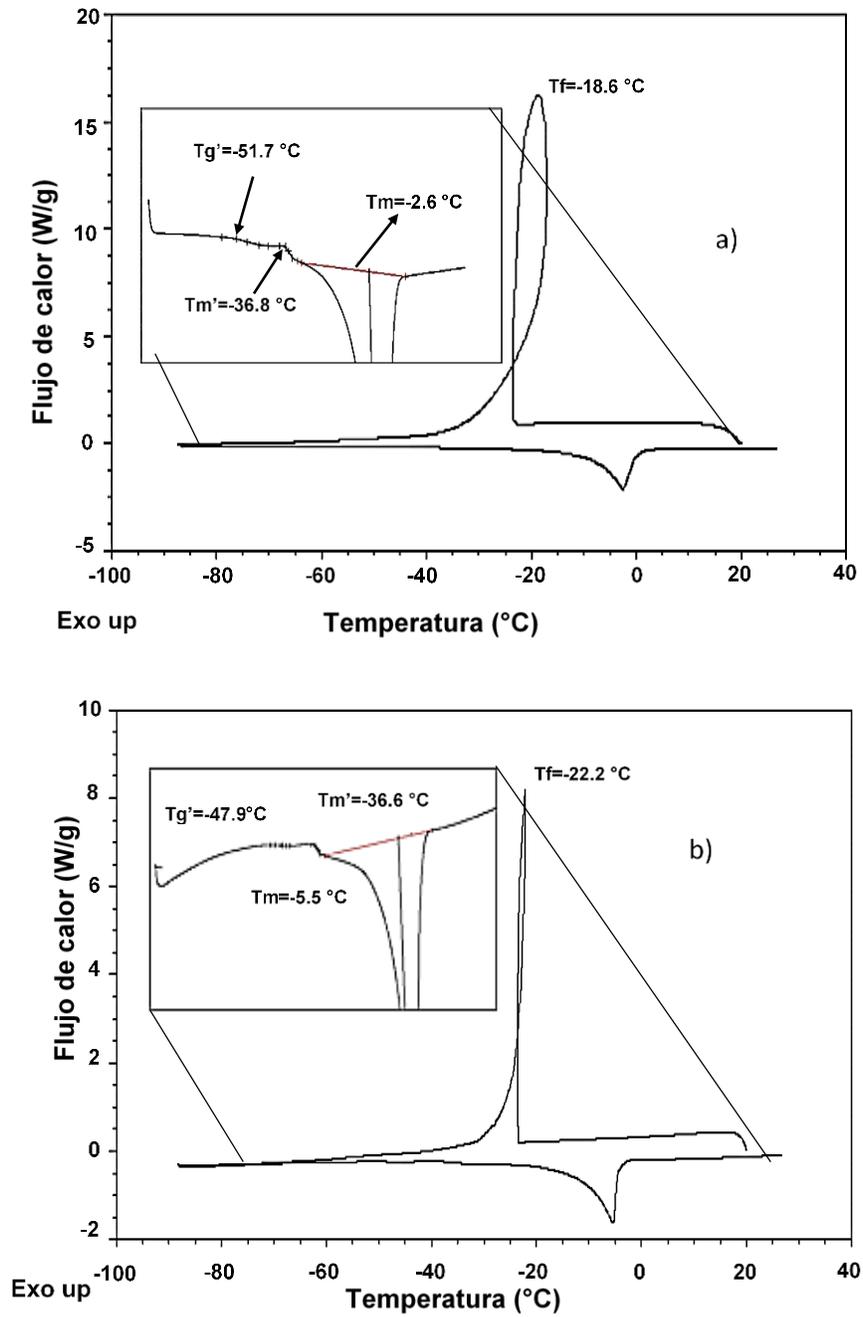


Figura 7.11. Termogramas DSC de jugo de mango liofilizado y preparado a diferente contenido de humedad (b.h). (a) 72.2%, (b) 61.1%, (c) 41.7% con annealing t=0 min a t= 30 min, (d) 41.7% con annealing t=30 min a t=90 min.

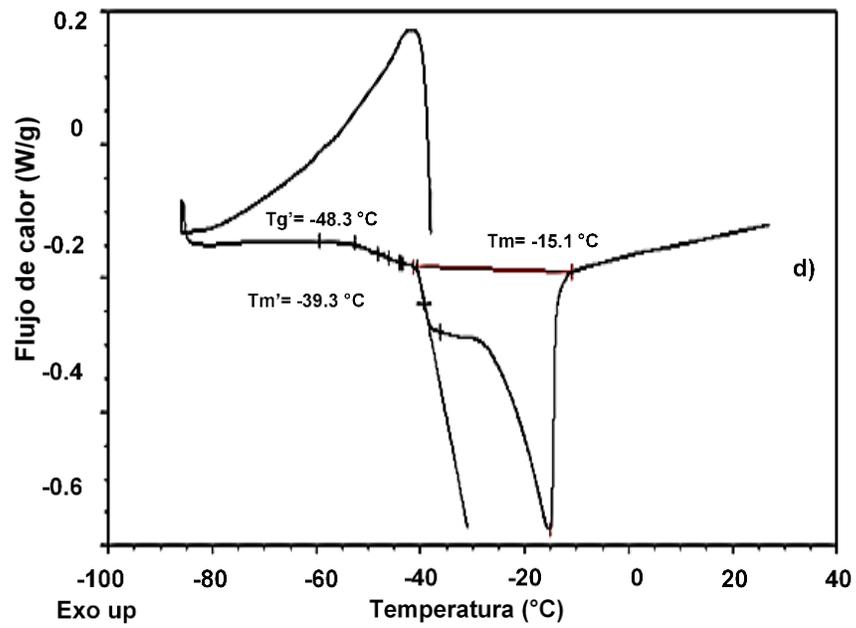
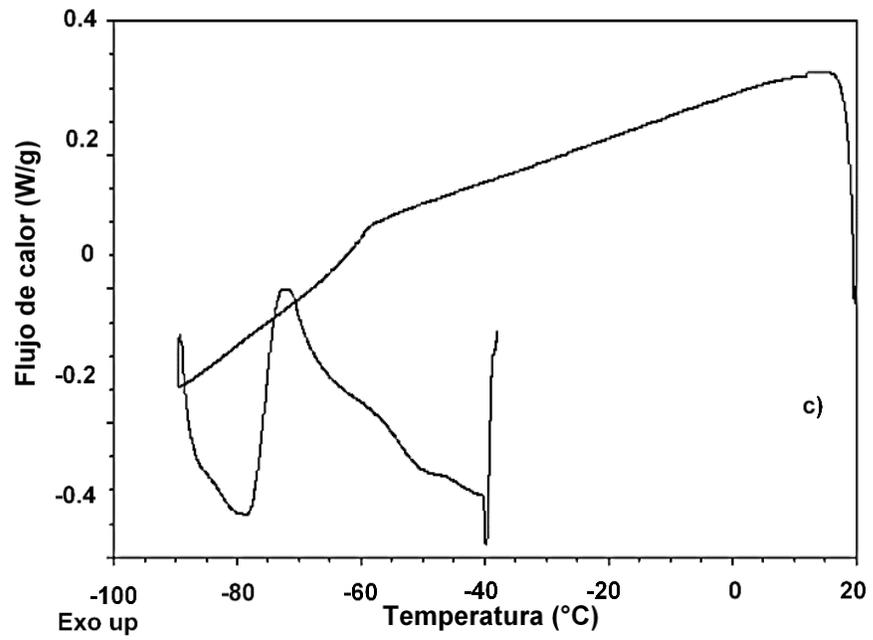
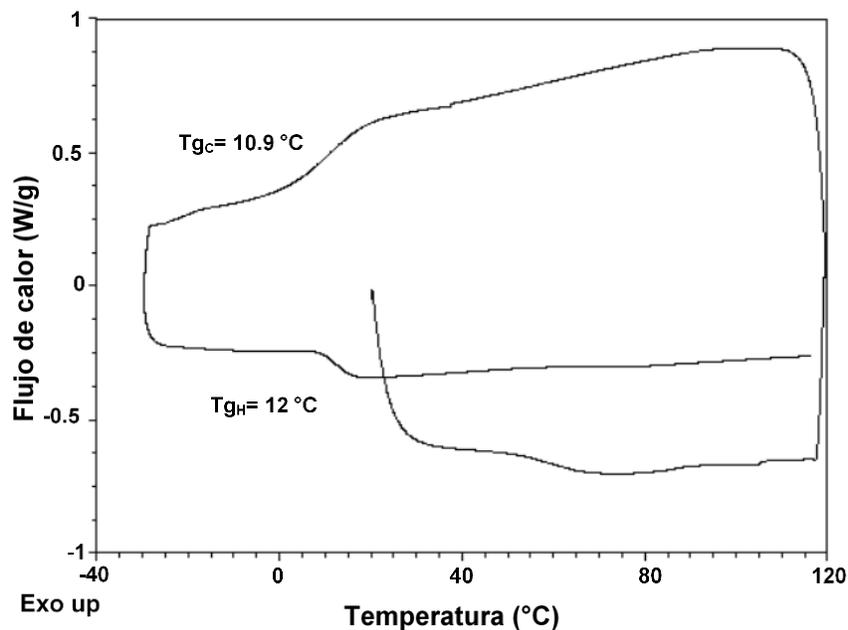


Figura 7.11. Continuación.....

### 7.3.3. Transiciones térmicas en jugos de fruta con agua no congelable

En la Figura 7.12 se muestra a manera de ejemplo, el termograma correspondiente para el polvo de jugo de tuna anhidro mostrando el proceso completo de calentamiento-enfriamiento-recalentamiento. En este termograma se puede observar que, durante el calentamiento las fusiones de los solutos no presentaron picos bien definidos como los observados en los sistemas modelo. Es probable que el proceso de liofilizado fomente la formación de un polvo conformado por una matriz casi amorfa o la presencia de los diferentes solutos formen una matriz cristalina con defectos en la estructura o enlaces débiles haciendo que la matriz presente una fusión con un amplio rango de temperatura.



**Figura 7.12.** Termograma DSC analizado para la determinación de  $T_{gC}$  y  $T_{gH}$  en el polvo de jugo de tuna en su estado anhidro.

Sin embargo, es importante resaltar que a pesar de que la muestra está conformada por múltiples componentes, solamente se presenta una sola temperatura de transición vítrea, durante el enfriamiento ( $T_{gC}$ ) y durante el recalentamiento ( $T_{gH}$ ), confirmando también una buena miscibilidad y compatibilidad entre los componentes (Orford et al., 1990, Seo et al., 2006). En este caso, (Figura 7.12), un valor de  $T_{gC}=10.9\text{ °C}$  y  $T_{gH}=12$

°C, son determinados para el polvo anhidro de tuna. De acuerdo con la Tabla 7.4, el jugo de tuna está constituido por 33.19% de fructosa y 58.54% de glucosa.

En la Figura 7.13 se muestran termogramas DSC cuando diferentes muestras de polvo de jugo de mango liofilizado y preparadas a distintos contenidos de humedad son analizados. En estos termogramas, se puede observar que a medida que el contenido de humedad es incrementado de 4.6 a 19.2% (b.h.), el valor de Tg disminuye drásticamente desde -3.15 hasta -54.91°C. Con esto, se confirma que la disminución causada por la concentración gradual del agua en el sistema es atribuida al efecto plastificante del agua en el sistema. Cabe recalcar que el efecto plastificante del agua sobre el valor de Tg también es observado en las muestras preparadas con polvo de jugo liofilizado de tuna, naranja, fresa y piña.

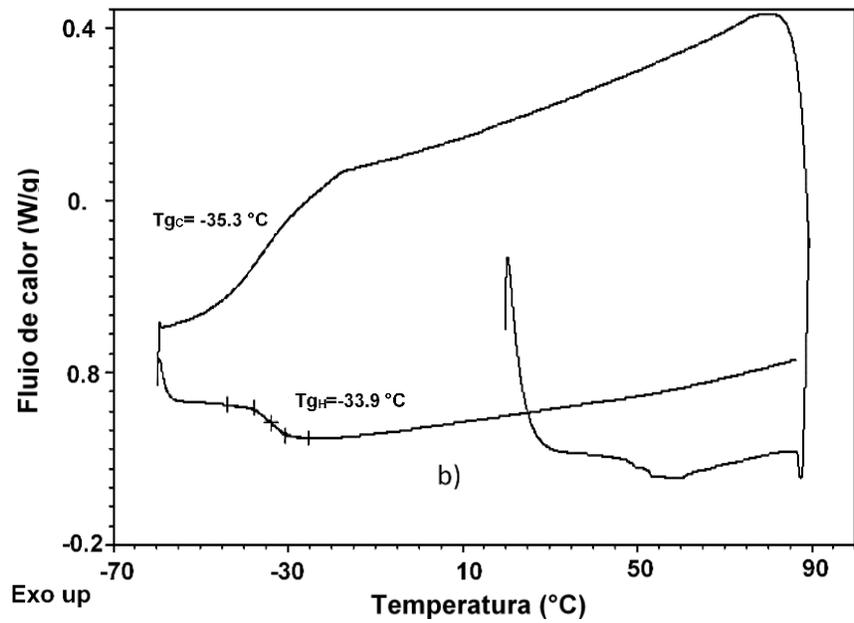
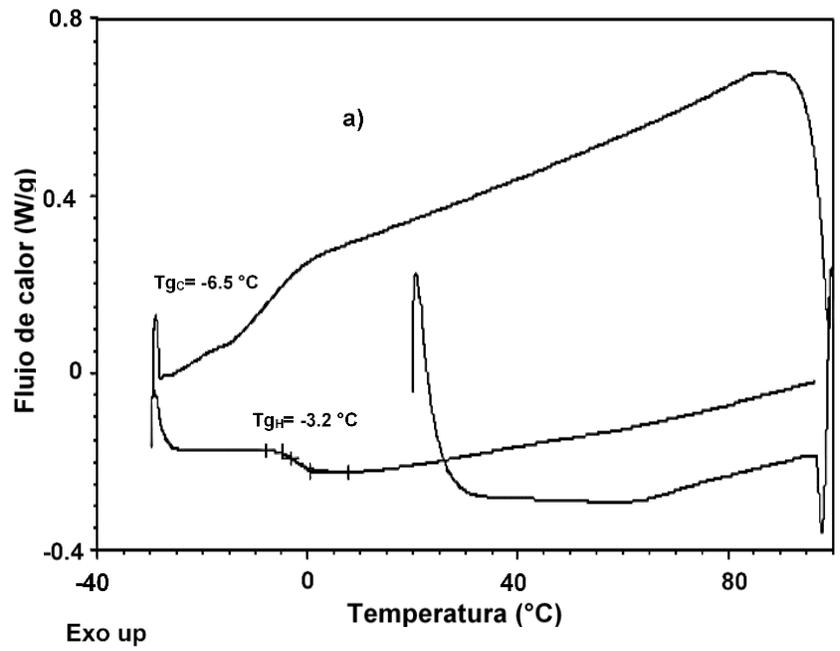


Figura 7.13. Termogramas DSC analizado para la determinación de  $T_{gC}$  y  $T_{gH}$  en jugo liofilizado de mango preparado a diferentes contenidos de humedad (b.h.). (a) 4.6%, (b) 12.5%, (c) 15.1%, (d) 19.2%.

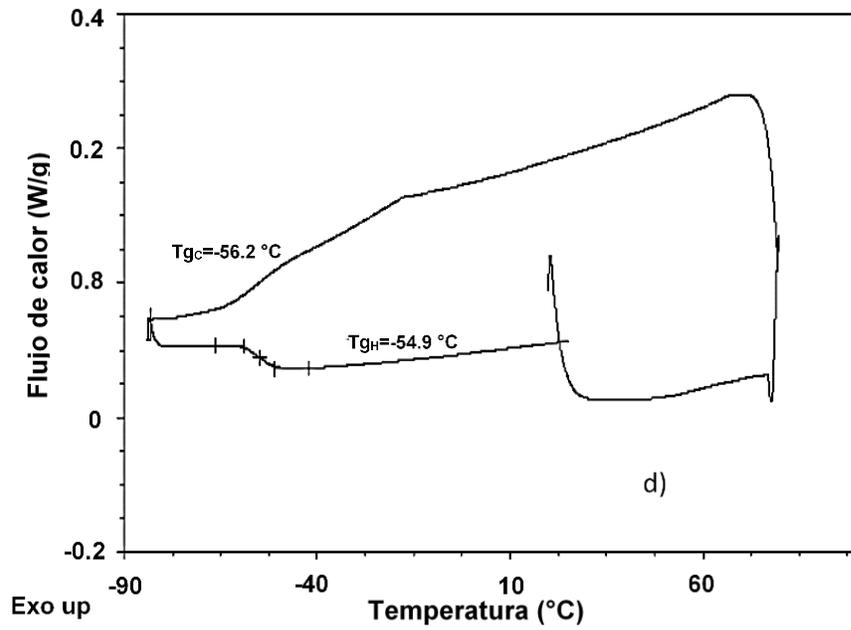
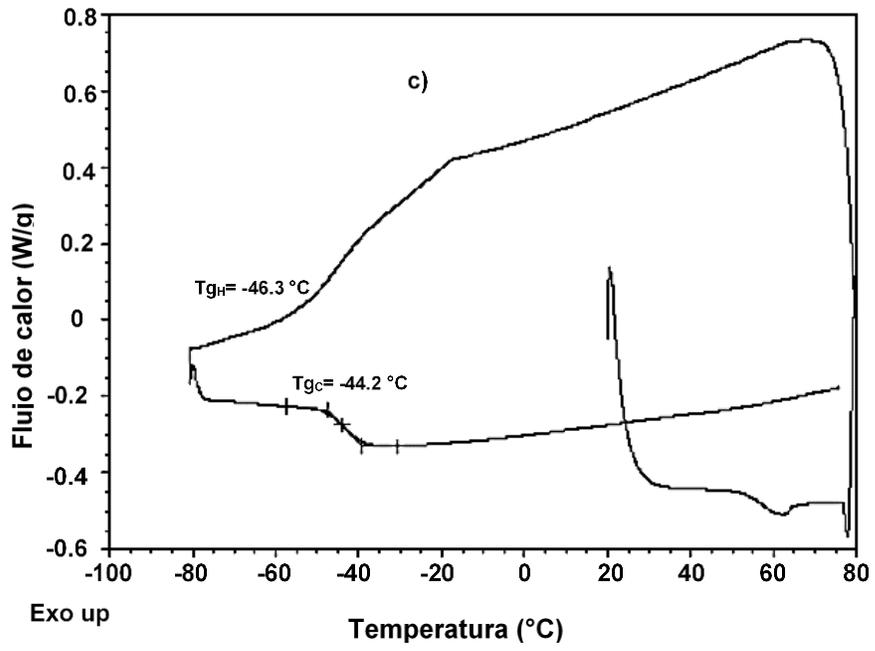


Figura 7.13. Continuación.....

### 7.3.4. Diagramas de estado de sistemas reales

Con los datos obtenidos en los termogramas DSC de los sistemas reales a diferentes contenidos de humedad, también se desarrollaron los diagramas de estado de los cinco jugos naturales. En la actualidad, existen diversos estudios en los que se elaboraron diagramas de estado de frutas y verduras como mango (Zhao et al., 2015), piña (Telis y Sobral, 2000), frambuesa (Syamaladevi et al., 2010), cebolla, uva y fresa (Sa y Sereno, 1994). Sin embargo, estos diagramas de estado solo son elaborados con frutas en los que sus respectivas composiciones químicas no son reportadas, y es conocido que la concentración y tipo de azúcares del sistema tiene un gran efecto sobre los componentes de los diagramas de estado.

**Tabla 7.5. Parámetros de los modelos matemáticos (Ecuaciones 7 y 1) y de la matriz con máxima crio-concentración para jugos naturales.**

| Jugo    | Parámetros de la Ecuación 7 |       |                | Parámetros de la Ecuación 1 |                 |                | Solución con máxima crio-concentración |                  |                  |
|---------|-----------------------------|-------|----------------|-----------------------------|-----------------|----------------|--|------------------|------------------|
|         | E                           | B     | R <sup>2</sup> | k                           | T <sub>gs</sub> | R <sup>2</sup> | x <sub>s</sub> '                       | T <sub>g</sub> ' | T <sub>m</sub> ' |
| Tuna    | 0.103                       | 0.100 | 0.985          | 3.27                        | 13.5            | 0.998          | 0.765                                  | -55.1            | -41.8            |
| Naranja | 0.074                       | 0.114 | 0.912          | 3.57                        | 28.3            | 0.995          | 0.773                                  | -52.4            | -35.3            |
| Mango   | 0.061                       | 0.279 | 0.955          | 3.47                        | 16.6            | 0.982          | 0.702                                  | -50.5            | -35.9            |
| Fresa   | 0.072                       | 0.253 | 0.983          | 3.43                        | 29.9            | 0.997          | 0.691                                  | -53.2            | -32.5            |
| Piña    | 0.101                       | 0.228 | 0.973          | 3.67                        | 23.9            | 0.996          | 0.692                                  | -54.2            | -39.9            |

En la Figura 7.14, se presentan los diagramas de estado para los jugos de fresa, tuna, piña, mango, y naranja, respectivamente. En la Tabla 7.6, se muestran los parámetros obtenidos por medio del ajuste, para modelar las curvas T<sub>m</sub> (Ecuación 7) y T<sub>g</sub> (Ecuación 1). De igual manera, se encuentran los parámetros característicos de la matriz con máxima crio-concentración (T<sub>m</sub>', T<sub>g</sub>' y x<sub>s</sub>'), definida en la Sección 2.5.2. Las formas de los diagramas de estado para los jugos naturales son muy similares a las observadas para los sistemas modelo. Por ejemplo, es notado que el punto de congelación (T<sub>m</sub>) y la temperatura de transición vítrea (T<sub>g</sub>) disminuyeron conforme el contenido de sólidos es incrementado. El orden de magnitud de los valores de los parámetros E, B, k, T<sub>gs</sub>, así como T<sub>g</sub>', T<sub>m</sub>' para los jugos naturales es muy similar a

los obtenidos en los sistemas modelo. Sin embargo, un análisis estadístico de t-Student para medias de dos muestras pareadas es necesario para establecer una conclusión objetiva.

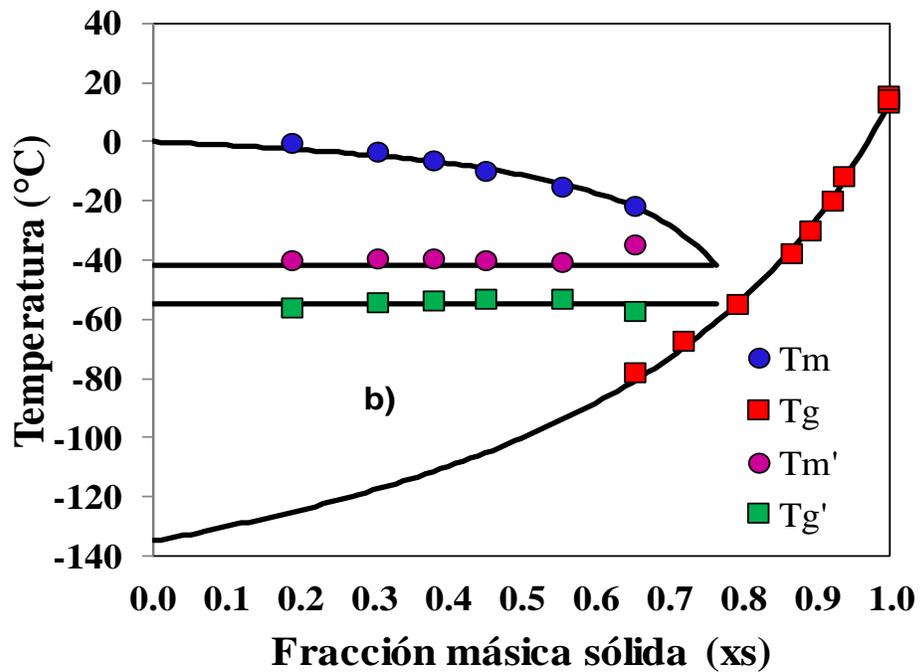
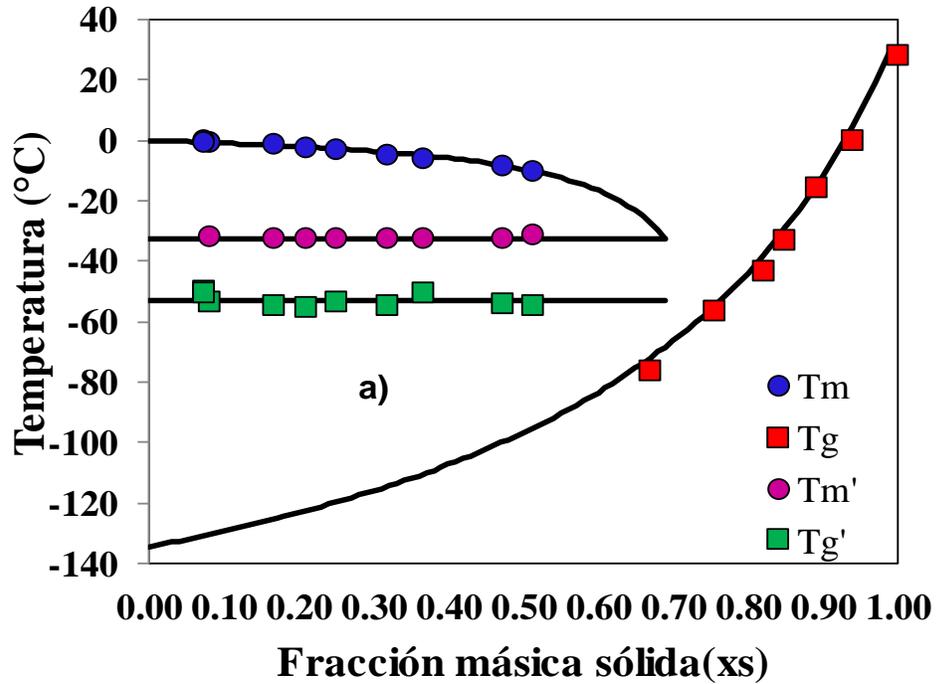


Figura 7.14. Diagramas de estado de jugos naturales (a) fresa, (b) tuna, (c) piña, (d) mango, (e) naranja.

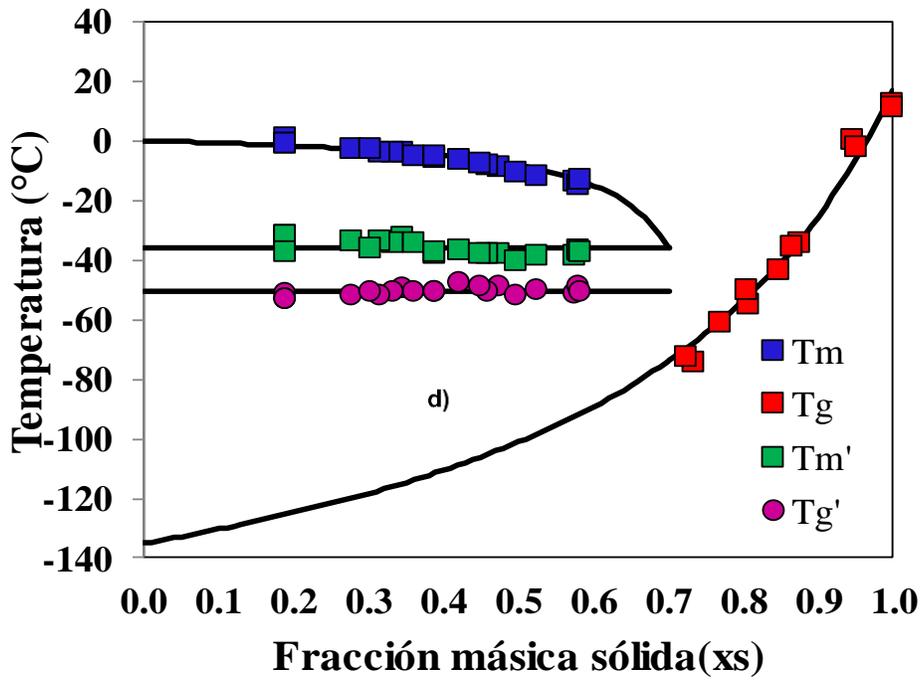
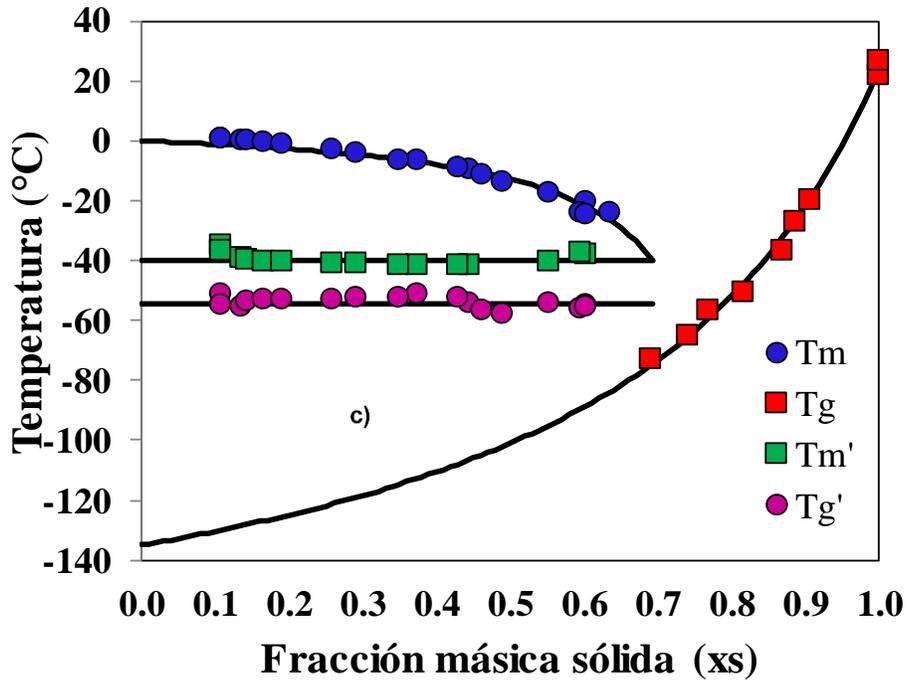


Figura 7.14. Continuación.....

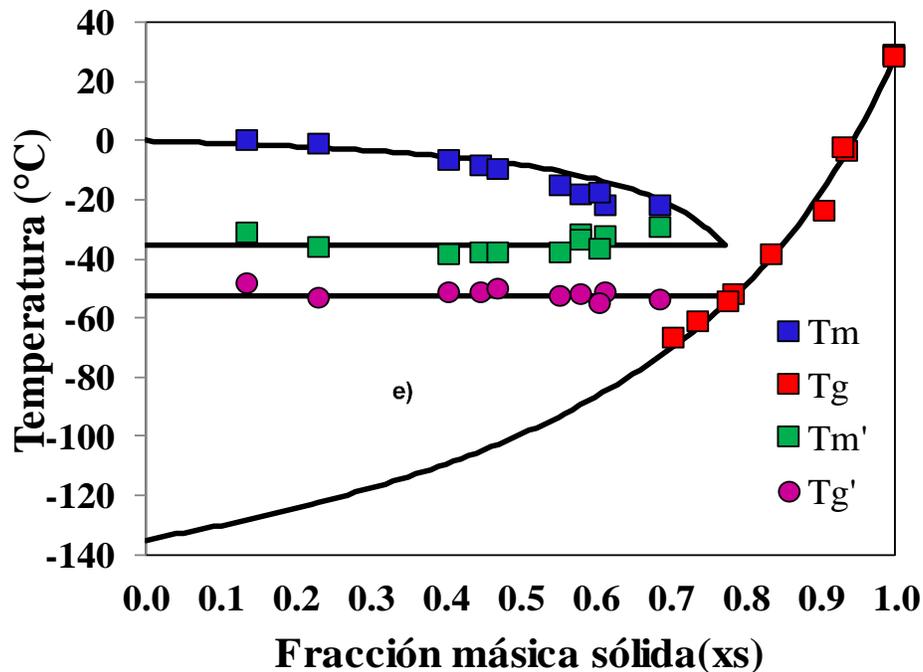


Figura 7.14. Continuación.....

### 7.3.5. Análisis comparativo de sistemas modelo y sistemas reales

Un análisis comparativo mediante una prueba de t-Student para medias de dos muestras pareadas, con dos colas de distribución y con un nivel confianza del 95% ( $p < 0.05$ ) es realizado entre las variables de respuestas experimentales reportadas en la Tabla 7.5 y las variables de respuestas calculadas con las Ecuaciones 9-15. Las fracciones másicas de los azúcares ( $X_F, X_G, X_S$ ) determinados de forma experimental en cada uno de los jugos y previamente reportados en la Tabla 7.4, son debidamente utilizadas en las Ecuaciones 9-15.

$$E = 0.081X_F + 0.071X_G + 0.064X_S + 0.039X_F X_G - 0.002X_F X_S + 0.074X_G X_S + 0.545X_F X_G X_S \quad (9)$$

$$B = 0.172X_F + 0.223X_G + 0.114X_S + 0.144X_F X_G + 0.243X_F X_S - 0.106X_G X_S - 5.175X_F X_G X_S \quad (10)$$

$$k = 3.264X_F + 4.193X_G + 3.807X_S - 1.251X_F X_G - 0.349X_F X_S - 0.154X_G X_S + 22.027X_F X_G X_S \quad (11)$$

$$T_{gs} = 8.039 X_F + 33.022 X_G + 36.673 X_S + 30.778 X_F X_S \quad (12)$$

$$x_{s'} = 0.795 X_F + 0.774 X_G + 0.827 X_S \quad (13)$$

$$T_{g'} = -58.472 X_F - 60.967 X_G - 53.817 X_S - 13.583 X_G X_S \quad (14)$$

$$T_{m'} = -43.942 X_F - 41.056 X_G - 34.860 X_S \quad (15)$$

Los resultados del análisis estadístico son mostrados en la Tabla 7.6. Con respecto a los valores de  $P > 0.05$ , es encontrado que las variables de respuestas E, B, k, Tgs y Tg' obtenidos para sistemas modelo y sistemas reales, son estadísticamente similares. Mientras que los valores de P encontrados para las variables de respuestas Tm' y xs', indican una diferencia significativa entre los sistemas modelo y sistemas reales. Por lo tanto, valores promedios de  $x_{s'} = 0.617 \pm 0.107$  g sólidos/g muestra y  $x_{s'} = 0.725 \pm 0.041$  g sólidos/g muestra son encontrados para los sistemas modelo y sistemas reales, respectivamente. Cabe remarcar que existe mucha incertidumbre en la determinación de los valores de  $x_{s'}$  a partir de los diagramas de estado, por lo que un método experimental para una determinación precisa de estos valores es requerido. Cabe remarcar también que, aunque en los sistemas modelo son considerados concentraciones constantes de ácido cítrico y pectina, los efectos individuales de estos componentes no son considerados en las Ecuaciones 9-15, y probablemente esto haya contribuido en que los valores de  $x_{s'}$  y Tm' de los sistemas modelo son diferentes de los sistemas reales.

**Tabla 7.6. Análisis estadístico t-Student para medias de dos muestras pareadas entre variables de respuestas experimentales (Exp) contra las calculadas con las Ecuaciones 9 a 15 (Mod) y considerando las fracciones másicas de fructosa, glucosa y sacarosa reportadas en la Tabla 7.4.**

|         | E            |       | B            |       | k            |      | Tgs          |      | xs'   |       | Tg'          |       | Tm'   |       |
|---------|--------------|-------|--------------|-------|--------------|------|--------------|------|-------|-------|--------------|-------|-------|-------|
|         | Exp          | Mod   | Exp          | Mod   | Exp          | Mod  | Exp          | Mod  | Exp   | Mod   | Exp          | Mod   | Exp   | Mod   |
| Tuna    | 0.103        | 0.075 | 0.100        | 0.212 | 3.27         | 3.25 | 13.5         | 21.7 | 0.765 | 0.707 | -55.1        | -54.3 | -41.8 | -38.1 |
| Naranja | 0.074        | 0.076 | 0.114        | 0.056 | 3.57         | 3.44 | 28.3         | 26.4 | 0.773 | 0.676 | -52.4        | -48.6 | -35.3 | -32.5 |
| Mango   | 0.061        | 0.069 | 0.279        | 0.088 | 3.47         | 3.33 | 16.6         | 28.3 | 0.702 | 0.693 | -50.5        | -48.3 | -35.9 | -32.3 |
| Fresa   | 0.072        | 0.050 | 0.253        | 0.106 | 3.43         | 2.18 | 29.9         | 13.1 | 0.691 | 0.467 | -53.2        | -35.2 | -32.5 | -24.8 |
| Piña    | 0.101        | 0.061 | 0.228        | 0.097 | 3.67         | 2.60 | 23.9         | 16.0 | 0.692 | 0.541 | -54.2        | -40.5 | -39.9 | -28.3 |
| P>t     | <b>0.165</b> |       | <b>0.194</b> |       | <b>0.119</b> |      | <b>0.807</b> |      | 0.044 |       | <b>0.088</b> |       | 0.024 |       |

De acuerdo a la Tabla 7.4, los jugos de naranja y piña presentan fracciones másicas de ácido cítrico con valores respectivos de 0.027 y 0.049. En el jugo de naranja, la concentración de ácido cítrico es 1.08 veces superior al valor establecido en los sistemas modelo (0.025), mientras que, para el jugo de piña, la concentración de ácido cítrico es 2 veces mayor al valor de 0.025. Así también, la concentración de pectina en el jugo de tuna (0.038), mango (0.140) y fresa (0.215) son respectivamente; 1.52, 5.6, 8.6, veces mayores al valor establecido en los sistemas modelo que también es de 0.025.

En la Figura 7.15, se presentan de forma gráfica los diagramas de estados desarrollados con las variables de respuesta determinadas con los sistemas reales (Tabla 7.5) y con las variables de respuestas obtenidas a partir de las Ecuaciones 9-15. Es evidente que en aquellos casos como el jugo de naranja, tuna y mango en donde la concentración de azúcares es muy cercana a la concentración establecida en los sistemas modelo (95% de azúcares totales), se tuvieron diagramas de estado muy similares entre los sistemas modelo y los sistemas reales pero muy diferentes en el caso de jugo de piña y jugo de fresa. Los resultados mostraron que una mayor disminución de la curva Tg y Tm es encontrada en los diagramas de estado de los sistemas reales. Lo anterior indica que la diferencia de las concentraciones de azúcares totales entre jugos naturales y sistemas modelo, junto con gran diferencia que presentaron el ácido cítrico y la pectina respecto a las restricciones del diseño experimental, juegan un rol importante en los diagramas de estado. Por otro lado, se conoce que el descenso del punto de congelación, es directamente proporcional a la concentración molar de la disolución, lo cual significa que mientras menor sea el peso molecular del soluto, la disminución del punto de congelación producida será mayor. El peso molecular del ácido cítrico es de 192.3 g/mol mientras que para la pectina un rango de 3000-100,000 Da con 70-75% de esterificación se tiene reportado dentro de sus especificaciones técnicas. Es probable entonces, que los pesos moleculares de la pectina en los sistemas reales y la pectina de los sistemas modelo sea diferente, posiblemente siendo mayor el peso molecular de la pectina presente en los sistemas reales.

En la Figura 7.15 (Jugo de piña, mango y fresa), también es notado que los valores de  $T_m'$  y  $T_g'$  para los sistemas reales son inferiores a los valores de  $T_m'$  y  $T_g'$  de los sistemas modelo. En la literatura ha sido reportado que algunos componentes de alto peso molecular como la maltodextrina, povidona, almidón, trehalosa, polisacáridos y componentes de bajo peso molecular como el glicerol, dimetilsulfóxido, glucosa utilizados en la industria de alimentos congelados como crioprotectores, actúan ya sea aumentando los valores de  $T_m'$  y  $T_g'$  o bien intensificando la disminución del punto de congelación ( $T_m$ ,  $T_m'$ ) y  $T_g'$  (Joshi, 2016). Es probable que un efecto de intensificación de los puntos de congelación ( $T_m$  y  $T_m'$ ) y  $T_g'$  haya sido dado en los sistemas reales por efecto sinérgico de la pectina y del ácido cítrico.

De acuerdo con los resultados mostrados en la Figura 7.15, la diferencia más marcada entre los diagramas de estado de los sistemas modelo y sistemas reales es encontrado en la zona de determinación de los parámetros de la matriz con máxima crioconcentración ( $x_s'$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ) debido a los posibles efectos ya discutidos previamente.

Puede ser concluido entonces que concentración total de azúcares, así como también la concentración de ácido cítrico y la pectina juegan también un rol importante en los diagramas de estado. Por lo tanto, deben ser considerados en la elaboración de sistemas modelo utilizando rangos de concentraciones más representativas de los sistemas reales cuando estos son utilizados para estudios fundamentales. De acuerdo a la composición química caracterizada para los jugos naturales utilizados en este estudio, rangos de concentraciones tanto de ácido cítrico como de pectina de 0 a 5% (b.h.), son recomendados y necesitan ser estudiados.

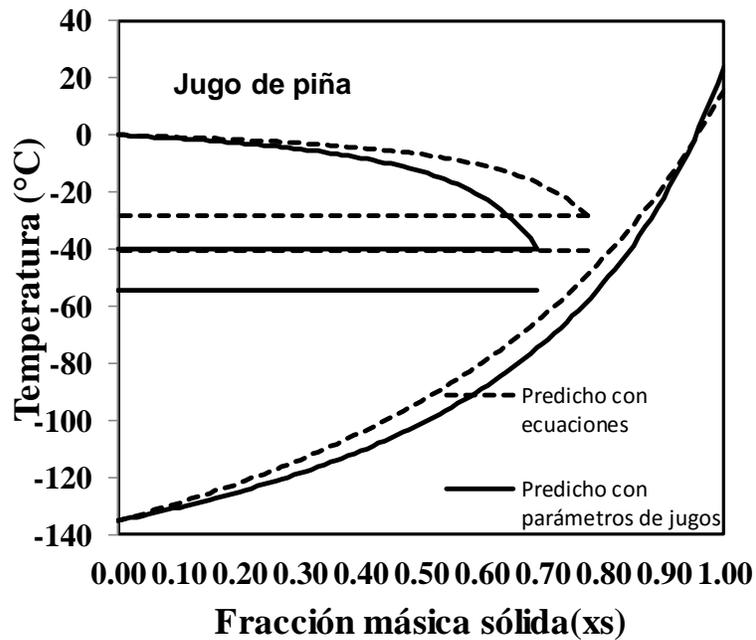
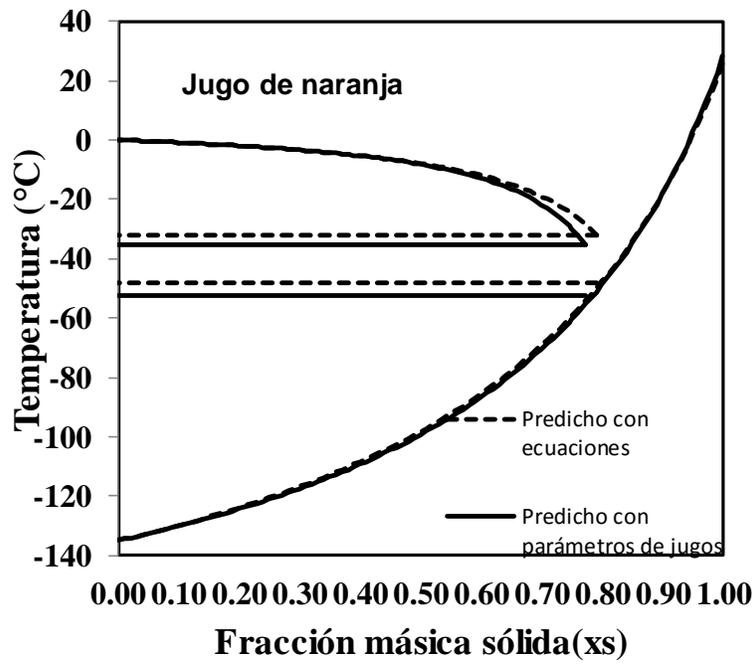


Figura 7.15. Representación gráfica de los diagramas de estado predicho con las Ecuaciones 9-15 y con los parámetros de jugos de frutas.

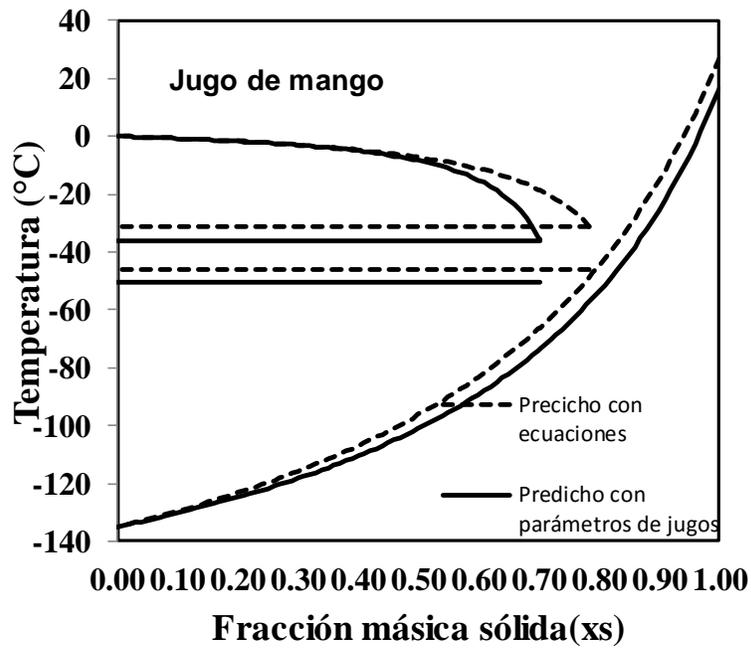
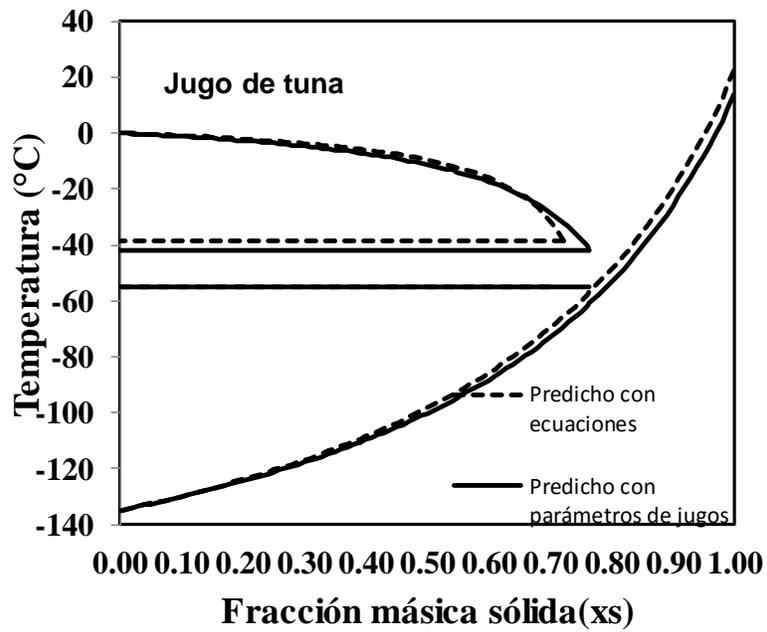


Figura 7.15. Continuación....

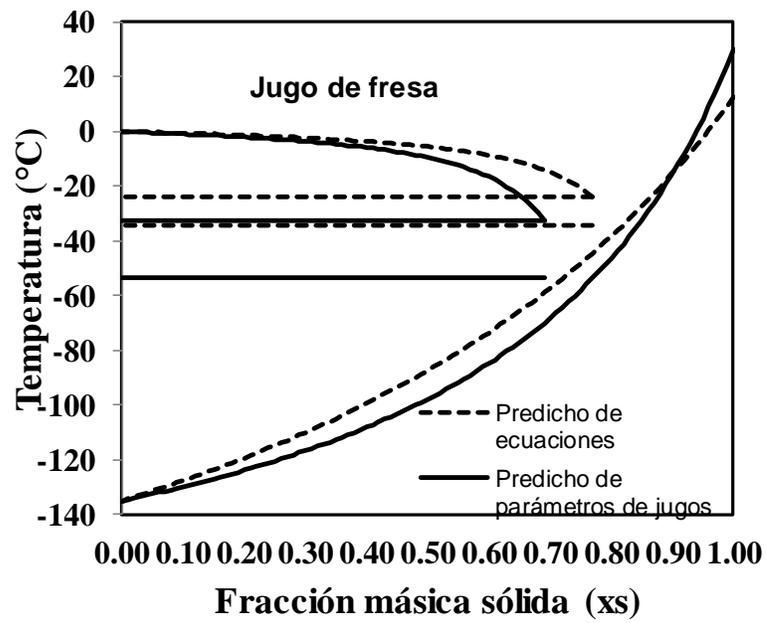


Figura 7.15. Continuación.....

## 8. Conclusiones

El método calorimétrico melt-quenching y el método de escaneo convencional lineal son adecuados para el análisis de las transiciones de fases y estado en sistemas modelo y polvos liofilizados de jugos de frutas, ambos preparados a diferentes contenidos de humedad. De esta manera, los valores de  $T_g$  son determinados en matrices con humedad no congelable y los valores de  $T_g'$ ,  $T_m'$  y  $T_m$  en matrices con agua congelable.

Los valores de  $T_g$  son modelados con la ecuación de Gordon-Taylor y las curvas  $T_g$  vs  $x_s$  son construidas y descritas de manera adecuada, tanto para los sistemas modelo como para los sistemas reales, hasta alcanzar el valor de  $T_g$  del agua pura. Con base al análisis estadístico y resultados ANOVA, los parámetros del modelo de Gordon-Taylor ( $T_{gs}$  y  $k$ ) son afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la composición química de los sistemas.

El modelo de Chen describió de manera adecuada la curva  $T_m$  vs  $x_s$  en todo el rango de agua congelable para todos los sistemas estudiados. Los parámetros del modelo de Chen ( $E$  y  $B$ ) también son afectados significativamente ( $p < 0.05$ ) por la composición química de los sistemas.

Los valores de  $T_m'$  y  $T_g'$  de los sistemas modelo y sistemas reales variaron respectivamente, de  $-33^\circ\text{C}$  a  $-41.8^\circ\text{C}$ ;  $-50.6^\circ\text{C}$  a  $-59.3^\circ\text{C}$  y de  $-32.5^\circ\text{C}$  a  $-41.8^\circ\text{C}$ ;  $-50.5^\circ\text{C}$  a  $-55.1^\circ\text{C}$ , los cuales son afectadas linealmente ( $p < 0.05$ ) por la fracción másica de los componentes de las mezclas.

El método de intersección de la curva  $T_m$  con el valor promedio de  $T_m'$  es utilizado para la determinación de los valores de  $x_s'$  en sistemas modelo y sistemas reales. No se encontró efecto significativo de la composición química sobre el valor de  $x_s'$  es encontrado en ambos casos. Por lo tanto, valores promedios de  $x_s' = 0.617 \pm 0.107$  g sólidos/g muestra y  $x_s' = 0.725 \pm 0.041$  g sólidos/g muestra son encontrados para los sistemas modelo y sistemas reales, respectivamente. Ambos valores son cercanos al valor de  $x_s' = 0.70$  g sólidos/g muestra, valor cercano al reportado como valor promedio de los alimentos ( $x_s' = 0.80$  g sólidos/g muestra).

Con base a un análisis estadístico de t-Student para medias de dos muestras pareadas ( $p < 0.05$ ), es encontrado que solamente las variables de respuestas E, B, k, Tgs y Tg' obtenidos para sistemas modelo y sistemas reales, son estadísticamente similares. La concentración total de azúcares, ácido cítrico y pectina en los sistemas reales promueven una disminución importante de la curva Tg y Tm en los diagramas de estado. De esta manera, la diferencia más marcada entre los diagramas de estado de los sistemas modelo y sistemas reales es encontrado en la zona de determinación de los parámetros de la matriz con máxima crio-concentración ( $x_s'$ ,  $T_m'$ ,  $T_g'$ ).

Es encontrado que, además de la concentración total de azúcares, el ácido cítrico y la pectina juegan también un rol importante en los diagramas de estado y, por lo tanto, deben ser, de igual manera, considerados en la elaboración de sistemas modelo utilizando rangos de concentraciones más representativas de los sistemas reales cuando estos son utilizados para estudios fundamentales como en este estudio. Por lo tanto, rangos de concentraciones tanto de ácido cítrico como de pectina de 0 a 5% (b.h.), son recomendados para elaborar sistemas modelo de frutas.

Los diagramas de estados propuestos en esta investigación pueden ser utilizados para predecir condiciones de congelación, procesamiento y/o almacenamiento de alimentos ricos en azúcares que presenten una composición química similar a los sistemas y/o jugos naturales utilizados en este estudio.

## Referencias

- Ablett S., Clarke C.J., Izzard M.J., Martin, D.R. (2002). Relationship between ice recrystallization rates and glass transition in frozen sugar solutions. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 82, 1855-1859.
- Ablett, S. Izzard, M.J., Lillford P.J. (1992). Differential Scanning Calorimetric Study of Frozen Sucrose and Glycerol Solutions. *Journal Chemical Society*. 88. 789-794.
- Aguilera, J.M., Valle, J.M., Karel, M. (1995). Caking phenomena in food powders: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 149-154.
- AOAC. (1996). *Official Methods of Analysis*. (16th ed.) Association of Official Analytical Chemists, Washington, USA.
- Arthey, D., Ashurst, P. R. (2001). *Fruit processing nutrition, products and quality management*. (2nd edition), Aspen Publishers.
- Badui, D.S. (2006). *Química de los alimentos*. 4ª edición, Pearson Education. 29-34.
- Bai Y, Rahman MS, Perera CO, Smith B, Melton LD. (2001). State diagram of apple slices: Glass transition and freezing curves. *Food Research International*, 34, 89-95.
- Berk, Z. (2003). *Food process engineering and technology*. (pp. 439-460). Academic Press, San Diego, CA.
- Bhandari BR, Howes T. (1999). Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40, 71-79.
- Bhandari. B.R., Hartel, R. W. (2005). Phase transitions during food powder production and powder stability. In C. Onwulata (Eds), *Encapsulated and powdered foods* (pp. 261-292). CRC Press-Taylor and Francis Group, Boca Raton.
- Brake N.C., Fennema OR. (1999). Glass transition values of muscle tissue. *Journal of Food Science*, 64, 10-15.
- Buera, M.P., Roos, Y., Levine, H., Slade, L., Corti, H.R., Reid, D.S., Auffret, T., Angell C.A. (2011). State diagrams for improving processing and storage of foods, biological materials and pharmaceuticals (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 83(8), 1567-1617.
- Chen, C.S. (1988). Bound water and freezing point depression of concentrated orange juices. *Journal of food science*, 53, 983-984.
- Chen, C.S., Nguyen, T.K., Braddock R.J. (1990). Relationship between freezing point depression and solute composition of fruit juice systems. *Journal of Food Science*. 55. 566-567, 569.

Devahastin, S. (2000). *Mujumdar's practical guide to industrial drying: principles, equipment and new developments*. Editorial Mc Gill, University Montreal, Canada.

Elmonsef A.M., Roos Y.H. (2007). Glass transition and crystallization behavior of freeze-dried lactose-salt mixtures. *Food Science and Technology*, 40, 536-543.

Evans, J.A. (2008). *Frozen food science and technology*. (1er edition). Blackwell publishing.

Foster, K.D., Bronlund, J.E., Paterson, A.H.J. (2006). Glass transition related cohesion of amorphous sugars powders. *Journal of Food Engineering*, 77, 997-1006.

Fraba MJ, Talens P, Moraga G, Martinez-Navarrete N. (2009). Sorption isotherm and state diagram of grapefruit as a tool to improve processing and stability. *Journal of Food Engineering*, 93, 52-58.

Goff HD, Sahagian ME. (1996). Glass transition in aqueous carbohydrate solutions and their relevance to frozen food stability. *Thermochimica Acta*, 280, 449-464.

Goff HD, Verespej E, Jermann D. (2003). Glass transition in frozen sucrose solutions are influenced by solute inclusions within ice crystals. *Thermochimica Acta*, 399, 43-55.

Goula AM, Karapantsios TD, Achilias DS, Adamopoulos KG. (2008). Water sorption isotherms and glass transition temperature of spray dried tomato pulp. *Journal of Food Engineering*, 85, 73-83.

Guizani, N., Al-Saidi, G.S., Rahman, M.S., Bornaz, S., Al-Alawi, A.A. (2010). State diagram of dates: Glass transition, freezing curve and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering*, 99, 92-97.

Hagiwara, T., Hartel, R.W. (1996). Effect of sweetener, stabilizer and storage temperature on ice recrystallization in ice cream. *Journal of Dairy Science*, 79, 735-744.

Hallbrucker A, Mayer E, Johari GP. (1989). The heat capacity and glass transition of hyperquenched glassy water. *Philosophical Magazine Part B*, 60(2), 179-187.

Harnkarnsujarit, N., Nakajima, M., Kawai, K., Watnabe, M., Suzuki, T. (2014). Thermal properties of freeze-concentrated sugar-phosphate solutions. *Food Biophysics*, 9, 213-218.

Iijima M, Nakamura K, Hatakeyama T, Hatakeyama H. (2000). Phase transition of pectin with sorbed water. *Carbohydrate Polymers*, 41, 101-106.

James, S.J., James, C. (2014). *Food safety management. A practical guide for the food industry* (pp. 481-510). Academic Press, Bilthoven, the Netherlands.

Jaya S, Das H. (2009). Glass transition and sticky point temperatures and stability/mobility diagram of fruit powders. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 89-85.

Jaya, S., Das, H. (2009). Glass Transition and Sticky Point Temperatures and Stability/Mobility Diagram of Fruit Powders. *Food Bioprocess Technology*, 2, 89-95.

Jiang, B., Liu, Y., Bhandari, B., Zhou, W. (2008). Impact of caramelization on the glass transition temperature of several caramelized sugars. Part I: chemical analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 5138-5147.

Kaale, L.D., Eikevik, T. M., Rustard, T., Kolsaker, K. (2011). Superchilling of foods: a review. *Journal of Food Engineering*, 148, 74-79.

Kasapis S. (2006). Definition and applications of the network glass transition temperature. *Food Hydrocolloid*, 20, 218-228.

Kasapis, S., Rahman, M.S., Guizani, N., Al-Aamri, M., (2000). State diagram of temperature vs date solids obtained from the mature fruit. *Journal of agricultural and food chemistry*. 48. 3779-3784.

Katkov, I.I. and Levine, F. (2004). Prediction of the glass transition temperature of water solutions: comparison of different models. *Cryobiology*, 49, 62-82.

Khalloufi S, El-Maslouchi Y, Ratti C. (2000). Mathematical model for prediction of glass transition temperature of fruit powders. *Journal of Food Science*, (65)5, 842-848.

Khalloufi S, El-Maslouhi Y, Ratti C. (2000). Mathematical model for prediction of glass transition temperature of fruit powders. *Journal of Food Science*, 65, 842-848.

Labuza, T.P., y Hyman, C.R. (1998). Moisture migration and control in multi-domain foods. *Trends in Food Science and Technology*, 9, 47-55.

Le Meste M, Champion D, Rountaut G, Blond G, Simatos D. (2002). Glass transition and food technology: A critical appraisal. *Journal of Food Science*, 67, 2444-2458.

Lebail A, Boillereaux L, Davenel A, Hayert M, Lucas T, Monteau JY. (2003). Phase transition in foods: effect of pressure and methods to assess or control phase transition. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 15-24.

LeBail, A., Boillereaux, L., Davenel, AL., Hayert, M., Lucas, T., Monteau, J.Y. (2003). Phase transition in foods: effect of pressure and methods to assess or control phase transition. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 4, 15.24

Levine, H., Slade, L. (1986). A polymer physico-chemical approach to the study of commercial starch hydrolysis products (SHPs). *Carbohydrate Polymers*, 3, 213-244.

Liu Y, Bhandari B, Zhou W. Glass transition and enthalpy relaxation of amorphous food saccharides: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54. 5701-5717.

Liu, Q., Kong, B., Han, J., Chen, Q., He, X. (2014). Effects of superchilling and cryoprotectants on the quality of common carp surimi: microbial growth, oxidation and physicochemical properties. *LWT Food Science and Technology*, 57, 165-171.

Mani, S., Jaya, S., y Das, H. (2002). Sticky issues on spray drying of fruit juices. Paper No: MBSK 02-201. An ASAE Meeting Presentation, 1-18.

Marella, C., Muthukumarappan, K. (2013). Handbook of farm, dairy and food machinery engineering (pp. 355-378). Academic Press, Delmar New York.

Martinez-Navarrete N, Andrés-Grau A.M., Chiralt-Boix, Fito-Maupoy P. (1999). Transiciones de fase en alimentos. Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno. Instituto Politécnico Nacional. 1999.

Michel-Cuello, C., Ortiz-Cerda, I., Moreno-Vilet, L., Grajales-Lagunes, A., Moscosa-Santillán, M., Bonnin, J., González-Chávez, M.M., Ruiz-Cabrera, M.A. (2012). Study of enzymatic hydrolysis of fructans from Agave salmiana: Characterization and kinetic assessment. *The Scientific World Journal*. Article ID863432, doi:10.1100/2012/863432.

Moraga G, Martinez-Navarrete N, Chiralt A. (2004). Water sorption isotherms and glass transition in strawberries: influence of pretreatment. *Journal of Food Engineering*, 62, 315-321.

Moraga G, Martinez-Navarrete N, Chiralt A. (2006). Water sorption isotherms and phase transitions in kiwifruit. *Journal of Food Engineering*, 72, 147-156.

Moraga, G., Talens, P., Moraga, M.J., Martinez-Navarrete, N. (2011). Implication of water activity and glass transition on the mechanical and optical properties of freeze-dried Apple and banana slices. *Journal of Food Engineering*, 106, 212-219.

Mosquera LH, Moraga G, Fernandez de Córdoba P, Martinez-Navarrete N. (2011). Water content-water activity-glass transition temperature relationships of spray dried borjón as related to changes in color and mechanical properties. *Food Biophysics*, 6, 397-406.

Mujumdar, A.S. (2007). Handbook of industrial drying. (3<sup>rd</sup> Edition). Editorial CRC Press, USA.

Ndoye, F.T., Álvarez, G. (2015). Characterization of ice recrystallization in ice cream during storage using the focused beam reflectance measurement. *Journal of food engineering*, 148, 24-34

Nirmal K. Sinha, Jiwan S. Sidhu. (2012). Handbook of fruits and fruit processing. (2<sup>nd</sup> edition). Blackwell Publishing. 67-68, 103-104, 133-134.

Orford, P.D., Parker, R., Ring, S.G. (1990). Aspects of the glass transition behavior of mixtures of carbohydrates of low molecular weight. *Carbohydrate research*. 196. 11-18.

Rahman M. S., Al-Marhubi I. M., Al-Mahrouqi A. (2007). Measurement of glass transition temperature by mechanical (DMTA), thermal (DSC and MDSC), water diffusion and density methods: A comparison study. *Chemical Physics Letters*, 440, 372-337.

Rahman M.S. (2006). State diagram of foods: Its potential use in food processing and product stability. *Food Science and Technology*, 17, 129-141.

Rahman M.S. (2010). Food Stability determination by macro-micro region concept in the state diagram and by defining a critical temperature. *Journal of Food Engineering* 99. 402-416.

Rahman MS. (2004). State diagram of date flesh using Differential Scanning Calorimetry (DSC). *International Journal of Food Properties*, 7, 407-428.

Rahman, M.S. (2004). State diagram of date flesh using differential scanning calorimetry (DSC). *International Journal of Food Properties*, 7(3), 407-428.

Ribeiro, C., Zimeri, J.E., Yildiz, E., y Kokini, J.L. (2003). Estimation of effective diffusivities and glass transition temperature of polydextrose as a function of moisture content. *Carbohydrate Polymer*, 51, 273-280.

Rockland LB. (1969). Water activity and storage stability. *Food Technol-Chicago*, 23, 1241.

Roopesh M Syamaladevi, Kalehiwot N. Manahiloh, Balasingam Muhunthan, Shyam S. Sablani. (2012). Understanding the influence of state/phase transitions on ice recrystallization in atlantic salmon (*Salmo salar*) during frozen storage. *Food biophysics*, 7, 57-71.

Roopesh M. Syamaladevi, Shyam S. Sablani, Juming Tang, Joseph Powers, Barry G. Swanson. (2010). Water sorption and glass transition temperatures in red raspberry (*Rubus Idaeus*). *Thermochimica Acta*. 504. 90-96.

Roos YH, Karel M. Applying state diagrams to food processing and development. *Food Technology*, 66, 71.

Roos YH. (1995a). Phase transition in foods. *Food Science and Technology*. Academic Press, San Diego CA, USA.

Roos YH. (1995b). Characterization of food polymers using state diagrams. *Journal of Food Engineering*. 24. 339-360.

Roos YH. (2010). Glass transition temperature and its relevance in food processing. *Food Science and Technology*. 1. 469-496.

Roos, Y.H. (2002). Importance of glass transition and water activity to spray drying and stability of dairy powders. *Lait*, 82, 475-484.

Roos, Y.H. (2012). *Food Materials Science and Engineering*. (1st Edition, 136-150) Blackwell Publishing.

Roudaut, G., Simatos, D., Champion, D., Contreras-lopez, E., Le Meste, M. (2004). Molecular mobility around the glass transition temperature: a mini review. *Innovative Food Science Emerging Technology*, 5, 127-134.

Ruiz-Cabrera MA, Rivera-Bautista C, Grajales-Lagunes A, González-García R, Schmidt SJ. (2016). State diagram for mixtures of low molecular weight carbohydrates. *Journal of Food Engineering*, 171,185-193.

Ruiz-Cabrera, M.A., Rivera-Bautista, C., Grajales-Lagunez, A., González-García, R., Schmidt, S.J. (2016). State diagrams for mixtures of low molecular weight carbohydrates. *Journal of food engineering*, 171, 185-193.

Ruiz-Cabrera, M.A., Schmidt, S.J. (2015). Determination of glass transition temperatures during cooling and heating of low-moisture amorphous sugar mixtures. *Journal of Food Engineering*, 146, 36-43.

Sá MM, Sereno AM. (1994). Glass transition and state diagram for typical natural fruits and vegetables. *Thermochemical Acta*, 246, 285-297.

Sá, M.M., Sereno A.M. (1994). Glass transitions and state diagrams for typical natural fruits and vegetables. *Thermochemica acta*, 46, 285-297.

Saavedra-Leos MZ. (2011). Estudio de la transición vítrea de sistemas modelo elaborados con fructosa, glucosa y sacarosa para la optimización del secado por aspersion y estabilidad de jugos de fruta en polvo. Tesis Doctorado. Facultad de Ciencias Químicas- Universidad Autónoma de San Luis Potosí. S.L.P. México.

Saavedra-Leos, M.Z., Alvarez-Salas, C., Esneider-Alcalá, M.A., Toxqui-Terán, A., Pérez-García, S.A., Ruiz-Cabrera, M.A. (2012). Toward an improved calorimetric methodology for glass transition temperature determination in amorphous sugars. *Cyta- Journal of Food*. 10(4), 258-267.

Sablani S.S., Syamaladevi, R.M., Swanson B.G. (2010). A review of methods, data and applications of state diagrams of food systems. *Food engineering review*. 3(2). 168-203.

Sablani, S.S., Syamaladevi, R.M., Swanson, B.G. (2010). A review of methods, data and applications of state diagrams of food systems. *Food Engineering Reviews*, 2,168-203.

Salunkhe, D. K., Kadam, S. S. (1995). *Handbook of fruit science and technology: production, composition, storage, and processing*. CRC press.

Santivarangkna, C., Aschenbrenner, M., Kulozik, U., y Foerst, P. (2011). Role of glassy state on stabilities of freeze-dried probiotics. *Journal of Food Science*. 76 (8). 152-156.

Schmidt SJ. (2004). Water and solids mobility in foods. *Advances in Food and Nutrition Research*. 48. 1-101.

Shrestha, A.K., Ua-arak, T., Adhikari, B.P., Howes, T., y Bhandary, B.R. (2007). Glass transition behavior of spray dried orange juice powder measured by differential scanning calorimetry (DSC) and thermal mechanical compression test (TMCT). *International Journal of Food Properties*. 10. 661-673.

Silva MA, Sobral PJA, Kieckbusch TG. (2006). State diagrams of freeze-dried camu.camu (*Myrciaria dubia* MC Vaugh) pulp with and without maltodextrin addition. *Journal of Food Engineering*. 77. 426-432.

Sinha, N. K., Sidhu, J.S., Barta, J., Wu, J.S. B., Cano, M.P. (Eds.). (2012). *Handbook of fruits and fruit processing*. Second Edition, Wiley-Blackwell.

Slade L, Levine H, Polymer. (1989) *Physicochemical characterization of oligosaccharides*. Papers American Chemical Society. (198). 70-CARB.

Sobral PJA, Telis VRN, Habitante AMQB, Sereno A. (2001). Phase diagram for freeze-dried persimon. *Thermochim Acta*. 376. 83-89.

Syamaladevi RM, Sablani SS, Tang J, Powers J, Swanson BG. (2009). State diagram and water adsorption isotherm of raspberry (*Rubus Idaeus*). *Journal of Food Engineering*. 91. 460-467.

Telis, V. R. N., Sobral, P. J. A. (2001). Glass Transition and state diagram for freeze-dried pineapple. *Academic Press*, 34, 199-205.

Telis, V.R.N., y Sobral, P.J.A. (2002). Glass transitions for freeze-dried and air-dried tomato. *Food Research international*, 35, 430-443.

Tolstorebrov, I., Eikevik, T.M., Bantle, M. (2016). Effect of low and ultra-low temperature applications during freezing and frozen storage on quality parameters for fish. *International Journal of Refrigeration*, 63, 37-47.

Tonon RV, Baroni AF, Brabet C, Gibert O, Pallet D, Hubinger MD. (2009). Water sorption and glass transition temperature of spray dried acai (*Euterpe oleracea* Mart.) juice. *Journal of Food Engineering*. 94. 215-221.

Vanhal I., Blond, G. (1999). Impact of Melting Conditions of Sucrose on Its Glass Transition Temperature. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4285-4290.

Vazquez, C., Díaz-Calderón, P., Enrione, J., Maticевич, S. (2013). State diagram, sorption isotherm and color of blueberries as a function of wáter content. *Termochimical acta*. 570. 8-15.

Vodovotz, Y., Chinachoti, P. (1998). Glassy-Rubbery transition and recrystallization during aging of wheat starch gels. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 46, 446-453.

Wang H, Zhang S, Chen G. (2008). Glass transition and state diagram for fresh and freeze-dried Chinese gooseberry. *J Food Engineering*. 84. 307-312.

Welti-Chanes J, Guerrero JA, Barcenas ME, Aguilera JM, Vergara F, Barbosa-Cánovas GV. (1999). Glass transition temperature ( $T_g$ ) and water activity ( $a_w$ ) of dehydrated Apple products. *Journal of Food Process Engineering*, 22, 91-101.

Wungtanagorn, R., Schmidt, S.J. (2001). Thermodynamic properties and kinetics of the physical aging of amorphous glucose, fructose and their mixture. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 65, 9-35.

Ywassaki, L.A., Canniatti-Brazaca, S.G. (2011). Ascorbic acid and pectin in different sizes and parts of citric fruits. *Ciência e Tecnologia de Alimentos, Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 31(2). 319-326.

Zhao JH, Liu F, Wen X, Xiao HW, Ni YY. (2015). State diagram for freeze-dried mango: freezing curve, glass transition line and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering*, 15, 49-56.

Zhao, J.H., Liu, F., Wen, X., Xiao H.W., Ni, Y.Y. (2015). State diagram for freeze-dried mango: Freezing curve, glass transition line and maximal-freeze-concentration condition. *Journal of Food Engineering*, 157, 49-56.